

УДК 631.46

МИКРОБИОМ ПОЧВ И СУПРАГЛЯЦИАЛЬНЫХ ОБЪЕКТОВ В ФОНОВЫХ И НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ЭКОСИСТЕМАХ О. ХЕЙСА (АРХИПЕЛАГ ЗЕМЛЯ ФРАНЦА-ИОСИФА)

© 2024 г. Д. А. Никитин^{a, b, *} (<http://orcid.org/0000-0002-8533-6536>), Н. А. Манучарова^c,
А. С. Добрянский^b

^aПочвенный институт им. В.В. Докучаева, Москва, Пыжевский пер., 7, стр. 2, 119017 Россия

^bИнститут географии РАН, Старомонетный пер., 29 стр. 4, Москва, 119017 Россия

^cМГУ им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1, Москва, 119991 Россия

*e-mail: dimnik90@mail.ru

Поступила в редакцию 03.06.2023 г.

После доработки 27.07.2023 г.

Принята к публикации 20.09.2023 г.

Методами люминесцентной микроскопии и полимеразной цепной реакции в реальном времени исследован микробиом почв и супрагляциальных объектов в фоновых и нефтезагрязненных экосистемах о. Хейса, входящего в архипелаг Земля Франца-Иосифа. Биомасса микроорганизмов составляла от 81 до 666 мкг С/г субстрата; ее большая часть (до 88%) представлена грибами. Длина мицелия грибов достигала более 360 м/г субстрата. Численность прокариот варьировала от 4.0×10^7 до 3.75×10^9 кл./г субстрата, длина гиф актиномицетов достигала 40 м/г субстрата. До 78% обнаруженных клеток прокариот представлены мелкими наноформами, что характерно для экстремальных экосистем. Доля жизнеспособных клеток микроорганизмов максимальна (74–86%) для поверхностных органогенных горизонтов и минимальна (29–54%) для минеральных надмерзлотных слоев. В составе комплекса прокариот доминировали бактерии (от 5.14×10^5 до 5.05×10^{10} копий 16S рРНК/г почвы), а не археи – от 8.46×10^5 до 2.28×10^9 копий 16S рРНК/г субстрата. Количество ITS рРНК грибов в образцах почв Земли Франца-Иосифа составляло от 6.47×10^4 до 8.67×10^{10} копий. Численность копий гена *alkB* (синтез алкан-монооксигеназы для деградации *n*-алканов углеводородов) варьировала от 1.2×10^1 до 1.8×10^5 /г субстрата и резко уменьшалась от поверхностных горизонтов к глубинным. Нефтезагрязненные почвы и супрагляциальные объекты содержали меньшую биомассу, однако большую численность рибосомальных генов микроорганизмов по сравнению с фоновыми экосистемами. Зарегистрировано экспоненциальное снижение проанализированных количественных параметров микроорганизмов от поверхностных к глубинным почвенным горизонтам.

Ключевые слова: Арктика, экстремальные экосистемы, Cryosols, почвы, численность копий рибосомальных генов, функциональные гены *alkB*, биомасса микроорганизмов, прокариоты, грибы

DOI: 10.31857/S0032180X24020056, **EDN:** XYLOXZ

ВВЕДЕНИЕ

Арктика – территория с чрезвычайно хрупкими экосистемами, где в наибольшей степени проявляются последствия глобального изменения климата и антропогенного влияния [4, 50]. Земля Франца-Иосифа (ЗФИ) – самая северная суша России и восточного полушария, которая однозначно отнесена к высокоширотной области Арктики [17]. Основная антропогенная нагрузка на архипелаге связана с аварийными разливами нефтепродуктов [1, 8]. Оценку их влияния на природу ЗФИ стало

возможно провести только в последние годы, когда был организован национальный парк “Русская Арктика”, создавший инфраструктуру для всестороннего изучения местных экосистем [17, 18].

Почва – основа существования наземных экосистем, поскольку микроорганизмы, обитающие в ней, являются ключевым звеном в биогеохимических циклах питательных элементов [37]. Именно микроорганизмы максимально быстро и чутко реагируют на изменения в окружающей среде, поэтому их часто выбирают в качестве индикаторов

состояния экосистем [28]. Важно отметить, что микроорганизмы скорее других существ способны адаптироваться к новым условиям, в том числе разлагая и интоксигируя нефтепродукты [52, 53].

Кроме почв, в Арктике широко распространены супрагляциальные объекты, т.е. находящиеся на поверхности ледника или снежника, характеризующиеся органо-минеральными взаимодействиями, аналогичными процессам педогенеза и проводимые во многом благодаря деятельности микроорганизмов [6, 39]. Исследования супрагляциальных объектов во многом разобщены и не систематизированы, в то время как информация об этих почвоподобных телах имеет важное фундаментальное значение [3, 6, 40].

Несмотря на то, что супрагляциальные объекты – экосистемы, лимитированные низкой температурой и малым количеством органического вещества [6], они становятся “горячими точками” обитания микроорганизмов на ледниках [32, 47]. Первичная биота супрагляциальных объектов, вероятно, приносится с эоловыми отложениями, ветром и водными потоками таящих ледников [6, 25]. Многие из обнаруженных таксонов в супрагляциальных объектах не адаптированы к местным условиям и попали в них случайно, однако присутствует также ряд стенофильных и одновременно психрофильных видов, приспособленных к жизни во льду [58]. Основу микробиома супрагляциальных объектов составляют автотрофные цианобактерии, реже – зеленые и диатомовые водоросли [38, 58]. Среди гетеротрофов преобладают бактерии [32, 38, 47], численность которых по данным люминесцентной микроскопии достигает 10^4 кл./г субстрата [51].

В образцах многолетнемерзлых грунтов, находящихся в условиях, длительной (7.5 тыс. лет) “консервации” микробных сообществ, где без процедур реактивации не выявляются культивируемые формы, реактивировано прокариотное мезофильное органотрофное сообщество (доминанты *Proteobacteria*, *Actinobacteria* и *Firmicutes*), численность которого составляет 10% от общей численности микроорганизмов, определенной методами люминесцентной микроскопии [10].

Микобиоте супрагляциальных объектов пока уделено недостаточно внимания [38, 49], хотя известно преобладание в них дрожжей, а не мицелиальных грибов [32]. Численность микромицетов в супрагляциальных объектах колеблется от 7×10^3 до 2×10^4 КОЕ/г, а доминируют *Cryptococcus gilvoscens*, *Mrakia* spp., *Rhodotorula* spp., *Phialophora alba* и *Articulospora tetracladia*, большая часть штаммов которых психрофильна и продуцирует гидралазы, активные при околонулевых температурах [49]. Этот факт доказывает, что микобиота может активно участвовать в разложении органических веществ супрагляциальных объектов. К настоящему

моменту проведено мало исследований микробиома супрагляциальных объектов молекулярно-биологическими методами [38, 58], а изучение экологии микроорганизмов пока поверхностно [38, 47, 49, 58]. К сожалению, функциональному разнообразию микроорганизмов (например, доли нитрификаторов и аммонификаторов) супрагляциальных объектов до сих пор уделено недостаточно внимания [32], хотя ясно, что прокариоты играют ключевую роль в биогеохимических циклах ледниковых экосистем [25, 32, 38]. Важно отметить, что супрагляциальные объекты являются важным источником микроорганизмов для первичных сукцессий на отложениях ледника сразу после его отступления, а значит и для инициации процессов почвообразования [6, 25]. Однако роль супрагляциальных объектов в этих процессах количественно не оценена. Они являются своего рода биореактором супрагляциальной системы, в котором происходит взаимодействие на разных уровнях организации вещества: от молекулярного до ландшафтного [6]. Через супрагляциальные объекты идет наиболее активный поток биогенных веществ, поддерживаются квазиравновесные температурные и фотические условия, что важно для развития микробных сообществ [49].

Цель работы – количественная характеристика микробиома фоновых и нефтезагрязненных почв, почвоподобных тел и супрагляциальных объектов о. Хейса архипелага ЗФИ классическими микробиологическими и молекулярно-генетическими методами.

В задачи работы входили: оценка численности копий рибосомальных генов микроорганизмов (16S рРНК архей и грибов, ITS рРНК грибов); выявление количества копий функционального гена алкан-монооксигеназы (alkB), отвечающего за деградацию *n*-алканов; определение структуры биомассы микроорганизмов (длина мицелия актиномицетов и грибов; численность клеток прокариот и спор грибов и т.д.).

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Все объекты исследования расположены на о. Хейса архипелага Земля Франца-Иосифа (рис. 1): в северо-восточной части острова, район обсерватории им. Эрнеста Кренкеля и вблизи мыса Останцовый. Объекты Х1Р, Х2Р, Х3Р, Х4Р расположены на I аккумулятивной морской террасе от 1.2 до 5 м над ур. м. Почвы Х1Р, Х2Р, Х3Р находятся в условиях вторичного загрязнения нефтепродуктами на участке террасы со следами антропогенного изменения поверхности. Объект Х4Р – фоновая почва на отложениях морской террасы.

Кроме почвенных образцов были изучены супрагляциальные объекты – снежники с заметными невооруженным глазом светопоглощающими

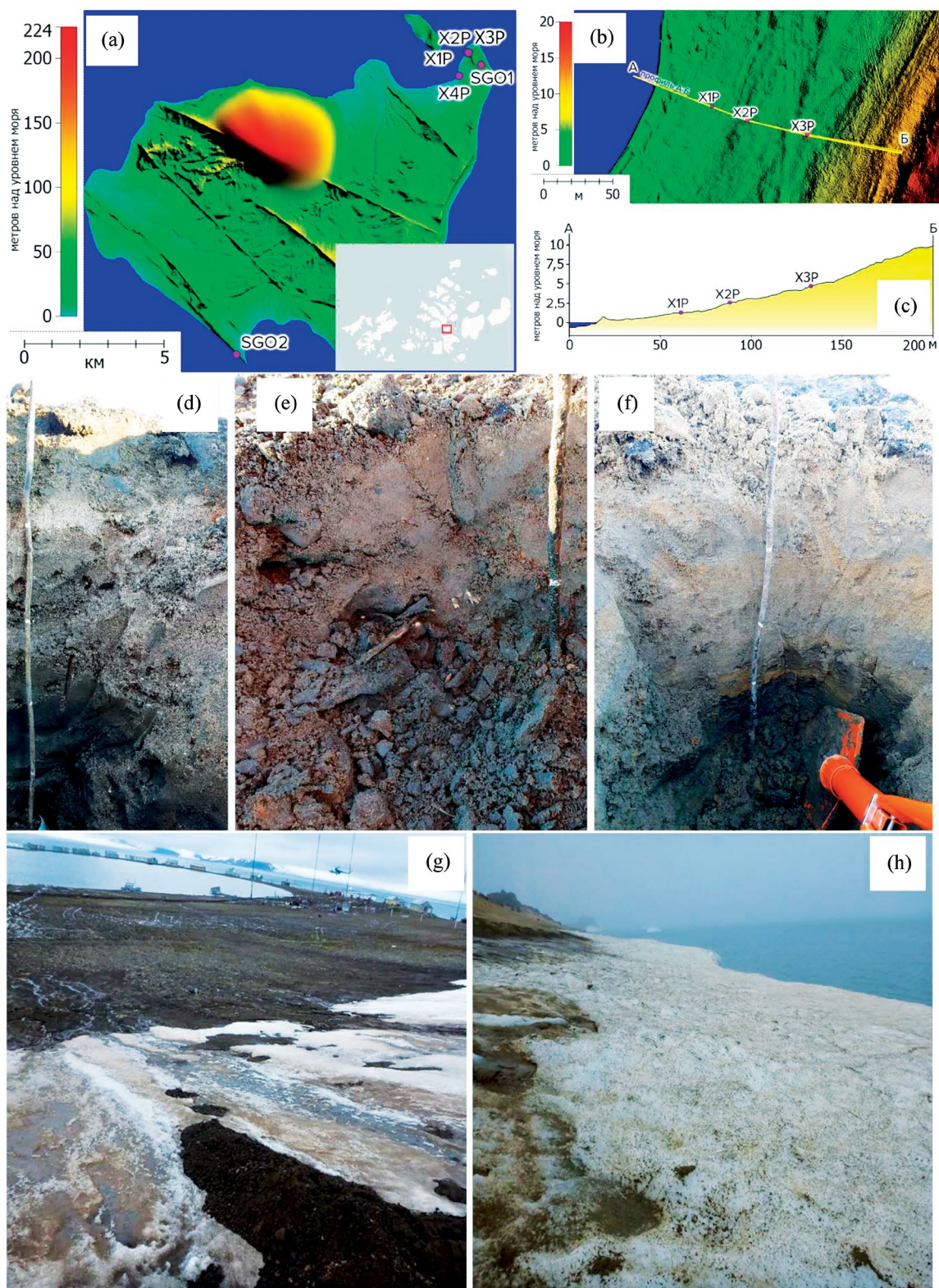


Рис. 1. Объекты исследования: а – карта-схема объектов исследования, рельеф на основе ArcticDEM [41]; б – карта-схема расположения X1P, X2P, X3P на основе фрагмента ЦММ с профилем А–В; с – высотный профиль А–В. Профили почв: д – X2P (псаммозем мерзлотный глееватый); е – X3P (псаммозем мерзлотный глееватый); ф – X4P (псаммозем сильнощепнистый); супрагляциальные объекты исследования: г – в районе метеостанции; h – в районе м. Останцовый.

примесями (light-absorbing impurities – LAI) [55]: SGO1 – снежник, расположен у подножия склона на верхнего силла северо-западной экспозиции к юго-западу от озера Космическое, между метеостанцией и кладбищем; SGO-2 – снежник в прибрежной зоне у подножия склона юго-западной экспозиции дайки “Останцовая-1” вблизи мыса Останцовый [24]. Исследованные супрагляциальные объекты содержали макроскопические примеси мелкозема, песка.

LAI состоят из минеральных и органических соединений, а также микроорганизмов, обеспечивающих биокосные взаимодействия, поэтому эти объекты можно считать почвоподобными образованиями [2]. Важно отметить, что LAI существенно снижают альbedo снежников и ускоряют не только их таяние, но и биогеохимические циклы окружающих экосистем [39, 55]. Некоторые свойства проанализированных объектов исследования и названия почв по классификации и диагностике почв России представлены в табл. 1. Все они относятся

к псаммоземам мерзлотным из-за наличия горизонта многолетней мерзлоты в пределах первого метра.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Количественную оценку содержания рибосомальных генов микроорганизмов осуществляли методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени. ДНК выделяли с использованием набора Power Soil DNA Isolation Kit (MO BIO, США) в соответствии с инструкцией производителя. Для учета архей и бактерий использовали праймеры на ген 16S рРНК, для учета грибов – на регион ITS. Реакцию проводили в амплификаторе Real-Time CFX96 Touch (Bio-Rad, США). Реакционную смесь готовили из препарата SuperMixEva Green (Bio-Rad, США). В качестве количественных стандартов концентрации генов 16S рРНК для бактерий использовали растворы клонированных фрагментов рибосомального оперона

Таблица 1. Объекты исследования

Объект	Номер образца	Географические координаты	Индекс горизонта	Глубина, см	Содержание нефтепродуктов, мг/кг (млн ⁻¹)	Заключение о загрязнении нефтепродуктами
X1P Псаммозем мерзлотный глееватый	1	80.627119° N, 58.030736° E	Очес	2–0	4650 ± 1520	Загрязнен
	2		W	0–5	4100 ± 1400	Загрязнен
	3		C	15–20	105 ± 26	Нет
X2P Псаммозем мерзлотный глееватый	4	80.627028° N, 58.032122° E	Очес	2–0	3900 ± 1200	Загрязнен
	5		C1	30–40	3200 ± 1100	Загрязнен
	6		Cg	40–50	2450 ± 860	Загрязнен
	7		Cg	60–70	320 ± 110	Нет
X3P Псаммозем сильнощебнистый	8	80.626928° N, 58.034488° E	C	5–15	4600 ± 1600	Загрязнен
X4P Псаммозем мерзлотный глееватый	9	80.619580° N, 58.014302° E	Почвенная биологическая корка (ПБК)	2–0	–	Нет
	10		W	0–10	–	Нет
	11		Cg	10–20	–	Нет
	12		Csu	40–50	–	Нет
	13		–	0–5	–	Нет
SGO1 (супрагляциальный объект 1, снежник)	13	80.622067° N, 58.064233° E	–	0–5	–	Нет
SGO2 (супрагляциальный объект 2, снежник)	14	80.531383° N, 57.572133° E	–	0–5	–	Нет

Примечание. Прочерк – не выявлены.

штамма K12 *Escherichia coli*, для архей – штамма FG-07 *Halobacterium salinarum*, для грибов – штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Meyen 1B-D1606. Для каждого образца реакцию проводили в трех повторностях. Концентрацию генов рассчитывали с помощью программного обеспечения CFX Manager, пересчитывая в препаратах ДНК количество генов на грамм почвы с учетом разведений и массы навески.

Численность копий функционального гена алкан-монооксигеназы (*alkB*), отвечающего за деградацию *n*-алканов в исследуемых образцах, оценивали методом количественной ПЦР в реальном времени. Нуклеотидная последовательность праймера (5'-3') гена *alkB* такова – F – TGGCCGGCTA CTCCGATGATCGGAATCTGG и Re – CGCG TGGTGATCCGAGTGCCGCTGAAGGTG [44, 57]. Размер целевого участка составлял 870 bp [57]. Измерение проводили на детектирующем амплификаторе DTLite4 ДНК-Технология (Россия) на определенные сутки суцессии (14-е сут). Полученные результаты измерений обрабатывали с использованием пакета программы Realtime_PCR. Данный детектирующий амплификатор DTLite4 совмещает в себе функции программируемого термоциклера и оптической системы, позволяющей регистрировать флуоресценцию реакционной смеси в пробирках в ходе полимеразной цепной реакции. Использовали интеркалирующий краситель SYBR® Green и красители, связанные с праймерами (Lightcyler – два зонда, связывающие ДНК-мишень на небольшом расстоянии друг от друга). Реакционную смесь готовили из препарата Super MixEva Green Biograd (концентрированный буфер с дезоксирибонуклеотидами, полимеразой Sso7d-fusion, MgCl₂, красителем EvaGreen и стабилизаторами). Калибровку прибора проводили по зависимости интенсивности флуоресценции от логарифма концентрации ДНК стандартных растворов. В качестве стандарта применяли культуру *Streptomyces violaceus* (sec. Roseus; ser. Roseoviolaceus), способную использовать углеводороды в качестве единственного источника питания (толуол).

Применяли следующий протокол для амплификации: 1 цикл: 94.0°C – 5 мин; 30 циклов: 94.0°C – 1 мин; 60°C – 1 мин; 72°C – 1 мин; 1 цикл: 72°C – 3 мин; 1 цикл – 4°C – охлаждение. Вычисление размеров пиков при амплификации и их площади проводили с использованием программного блока Fragment Analysis (Beckman Coulter). При статистической обработке из рассмотрения исключали пики с интегральной площадью менее 1% от суммарной в каждом отдельном образце. Для сравнения генетического разнообразия сообществ использовали коэффициент Симпсона:

$$S = 1 - \sum(n_i/n)^2,$$

где n_i – площадь отдельного пика; n – совокупная площадь пиков; вычисления проводили с использованием программы PAST.

Количество исследуемой ДНК выражали в абсолютных или относительных единицах. Каждое количественное определение матрицы ДНК требовало трех стандартов и отрицательного контроля (образца без матрицы ДНК).

Статистическую обработку данных содержания рибосомальных генов микроорганизмов проводили с помощью программы Statistica 6.0. Все пробы почв анализировали в 5-кратной повторности.

Биомассу прокариот оценивали с помощью метода люминесцентной микроскопии с применением флуоресцентного красителя акридина оранжевого (микроскоп Биомед 5 ПР ЛЮМ (Россия)) при увеличении 1000× с масляной иммерсией [7]. Десорбцию клеток с почвы проводили при помощи ультразвуковой установки УЗДН-1 (Россия) (2 мин, сила тока 0.40 А, частота 22 кГц). Расчет числа клеток прокариот на 1 г субстрата производили по формуле:

$$N = S_1 a n / V S_2 C,$$

где N – число клеток на 1 г субстрата; S_1 – площадь препарата, мкм²; a – количество клеток в одном поле зрения, усреднение производится по всем препаратам; n – показатель разведения бактериальной смеси, мл; V – объем капли, наносимой на стекло, мл; S_2 – площадь поля зрения микроскопа, мкм²; C – навеска субстрата, г. Длину актиномицетного мицелия в 1 г образца, NMA определяли по формуле:

$$NMA = S_1 a n / v S_2 c \times 10^6,$$

где S_1 – площадь препарата, мкм²; a – средняя длина фрагментов актиномицетного мицелия в поле зрения, мкм; n – показатель разведения суспензии, мл; v – объем капли, наносимой на стекло, мл; S_2 – площадь поля зрения микроскопа, мкм²; c – навеска образца, г.

Биомассу грибов определяли методом люминесцентной микроскопии с применением флуоресцентного красителя калькофлуора белого [7]. Учет спор и длины мицелия осуществляли на люминесцентном микроскопе Биомед 5 ПР ЛЮМ (Россия) при увеличении 400×. Десорбцию клеток с почвы проводили при помощи вортекса MSV-3500 (Латвия) при скорости 3500 об./мин в течение 10 мин. Расчет количества грибных клеток на 1 г субстрата производили по формуле:

$$M = ((4a n) / p) \times 10^{10},$$

где M – количество клеток в 1 г почвы; a – среднее число клеток в поле зрения; p – площадь поля

зрения (мкм²); n – показатель разведения. Длину грибного мицелия в 1 г образца (NMA) определяли по формуле:

$$NMA = S_1 a n / v S_2 c \times 10^6,$$

где S_1 – площадь препарата, мкм²; a – средняя длина фрагментов мицелия в поле зрения, мкм; n – показатель разведения суспензии, мл; v – объем капли, наносимой на стекло, мл; S_2 – площадь поля зрения микроскопа, мкм²; c – навеска образца, г. Расчет грибной биомассы (мг/г почвы) осуществляли, полагая, что плотность спор равна 0.837 г/см³, а плотность мицелия – 0.628 г/см³ [20]. Содержание грибной биомассы на грамм сухой почвы рассчитывали с учетом ее влажности. Для каждого образца просматривали по 3 препарата по 90 полей зрения каждый.

Долю мертвых клеток микроорганизмов оценивали при помощи этидиума бромида [41], а жизнеспособных – применяя флуоресцеин диацетат [35].

Статистическую обработку данных структуры биомассы прокариот и грибов осуществляли с помощью программ Microsoft Office Excel 2020 и Statistica 10.0. Для численности бактерий среднее квадратическое отклонение (σ_{n-1}) не превышало 10%, для мицелия и спор грибов, а также для актиномицетного мицелия – 15%.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Количественная оценка содержания рибосомальных генов методом ПЦР-реал тайм. Численность копий рибосомальных генов 16S рРНК архей мала и изменялась от 8.46×10^5 до 2.28×10^9 копий генов/г субстрата. Минимум архей выявлен в минеральном горизонте Сg профиля фоновой почвы Х4Р, а максимум – в подповерхностном горизонте W загрязненного нефтепродуктами профиля Х1Р (рис. 2). Для большей части проанализированных почв количество рибосомальных генов 16S рРНК архей составляло 10^7 – 10^8 копий генов/г субстрата. В целом для всех исследованных объектов обилие архей сокращалось от поверхностных горизонтов к надмерзлотным. Однако в загрязненном нефтепродуктами профиле Х2Р и в профиле фоновой почвы Х4Р максимум архей отмечено для подповерхностных горизонтов Сsu и W, находящихся в 30–40 и 0–10 см от поверхности. Среди всех проанализированных профилей ЗФИ наименьшая численность архей (1.57×10^8 копий генов/г субстрата) характерна для профиля фоновой почвы Х4Р, а наибольшая (4.09×10^9 копий генов/г субстрата) – для загрязненного нефтепродуктами профиля Х1Р.

Количество копий генов 16S рРНК бактерий было в 10 раз больше, чем архей, и варьировало от 5.14×10^5 копий генов/г субстрата в надмерзлотном горизонте Сsu профиля фоновой почвы Х4Р

до 5.05×10^{10} копий генов/г субстрата в моховом очесе загрязненного нефтепродуктами профиля Х2Р (рис. 3). Для большей части проанализированных почв количество рибосомальных генов 16S рРНК бактерий составляло 10^7 – 10^8 копий генов/г субстрата. Для всех исследованных профилей количество генетического материала бактерий резко уменьшалось от поверхностных горизонтов к надмерзлотным. Среди всех проанализированных профилей ЗФИ наименьшая численность копий генов бактерий (3.39×10^8 копий генов/г субстрата) характерна для загрязненного нефтепродуктами профиля Х3Р, а наибольшая (5.06×10^{10} копий генов/г субстрата) – для загрязненного нефтепродуктами профиля Х1Р.

Численность рибосомальных генов ITS рРНК грибов изменялась от 6.47×10^4 до 8.67×10^{10} копий генов/г субстрата (рис. 2). Наименьшие значения выявлены в единственном горизонте С загрязненного нефтепродуктами профиля Х3Р, а максимальные – в моховом очесе загрязненного нефтепродуктами профиля Х1Р. Для большей части проанализированных объектов количество рибосомальных генов ITS рРНК грибов составляло 10^6 – 10^8 копий генов/г почвы. Во всех исследованных профилях количество генетического материала грибов уменьшалось от поверхностных горизонтов к надмерзлотным. Среди всех проанализированных профилей ЗФИ наименьшая численность копий генов грибов (4.05×10^7 копий генов/г субстрата) характерна для загрязненного нефтепродуктами профиля Х3Р, а наибольшая (8.71×10^{10} копий генов/г почвы) – для загрязненного нефтепродуктами профиля Х1Р.

Для архей и бактерий минимум численности копий рибосомальных генов отмечен для минеральных горизонтов профиля фоновой почвы Х4Р. Для архей и грибов максимум численности копий рибосомальных генов характерен в загрязненном нефтепродуктами профиле Х1Р. Для бактерий и грибов минимум численности копий рибосомальных генов зафиксирован в загрязненном нефтепродуктами профиле Х1Р, а максимум – в загрязненном нефтепродуктами профиле Х3Р.

Количество копий рибосомальных генов всех микроорганизмов в супрагляциальных объектах по порядку значений было сопоставимо с данными для поверхностных горизонтов исследуемых почв, загрязненных нефтепродуктами.

Численность копий функционального гена *alkB*, отвечающего за синтез фермента алкан-монооксигеназы, варьировала от 4.4×10^1 до 3.14×10^5 /г субстрата и резко уменьшалось от поверхностных горизонтов к глубинным (рис. 3). Максимальные значения количества генов *alkB* отмечены в профилях Х1Р, Х2Р, Х3Р, загрязненных нефтепродуктами, а минимальное – в фоновых почвах. В надмерзлотном

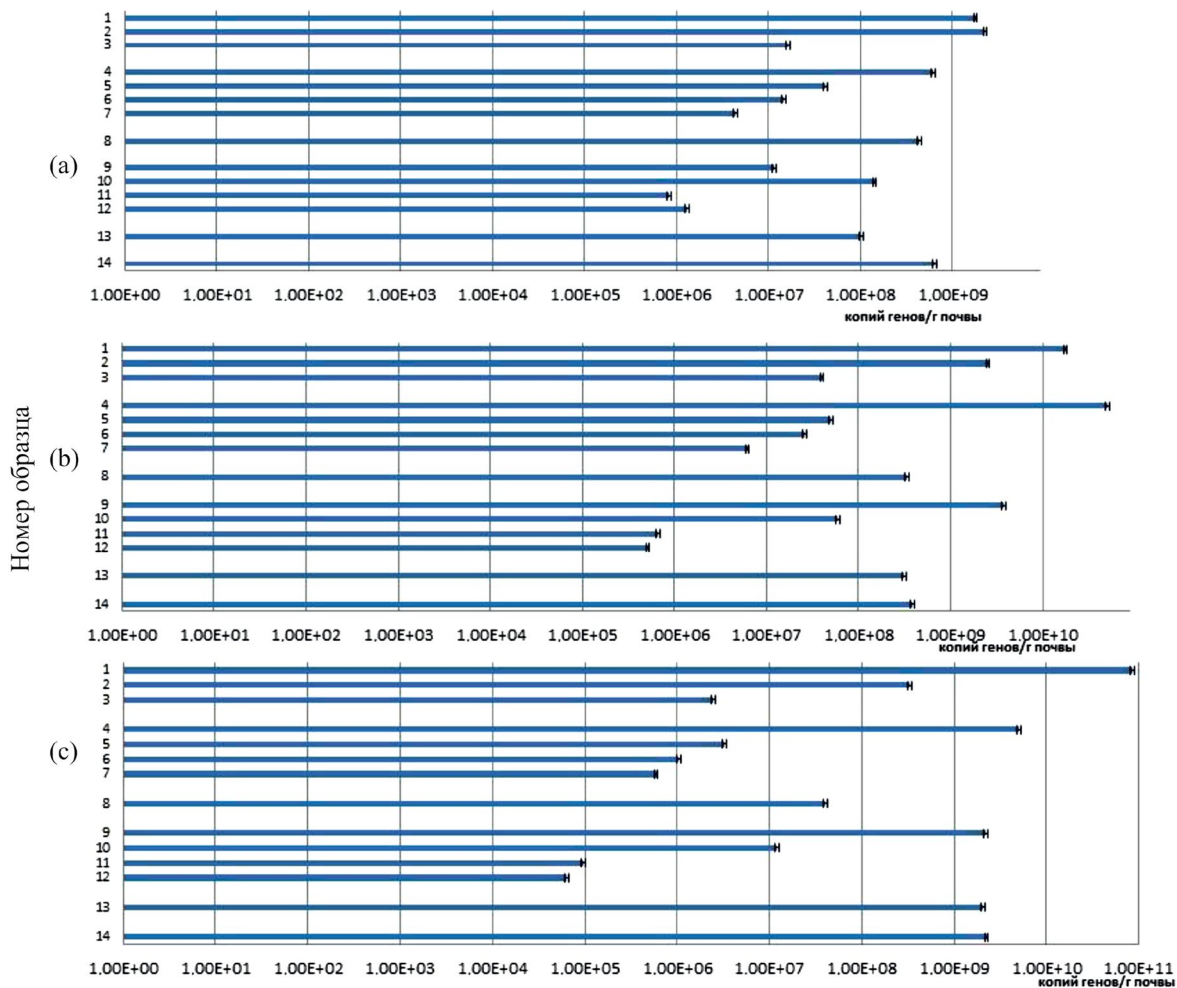


Рис. 2. Количество копий генов микроорганизмов: а – 16S рНК архей; б – 16S рНК бактерий; с – ITS рНК грибов.

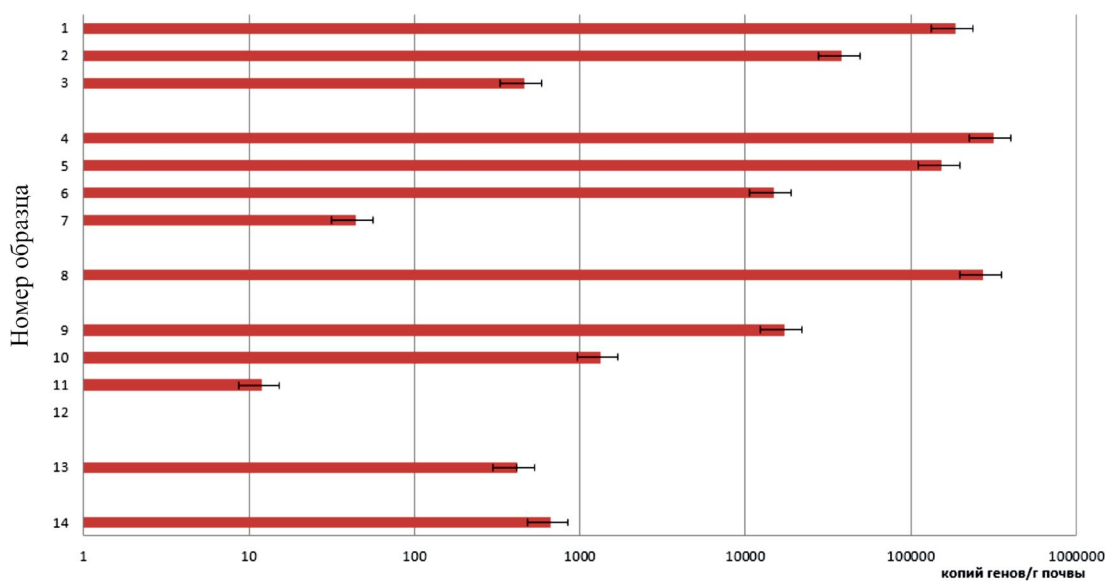


Рис. 3. Количество копий функциональных генов *alkB*.

горизонте профиля Х4Р данные гены не выявлены. Количество копий функциональных генов *alkB* в супрагляциальных объектах по порядку значений было сопоставимо с данными для поверхностных горизонтов исследуемых фоновых почв.

Структура биомассы грибов. Значения биомассы микобиоты в исследованных объектах варьировали от десятков до сотен мг/г субстрата (табл. 2). Отмечено резкое снижение ее значений от поверхностных органогенным к глубинным минеральным горизонтам. Минимум грибов (до 0.035 мг/г субстрата) обнаружен в глубинном слое 40–50 см профиля Х4Р, а максимум микобиоты (более 0.445 мг/г субстрата) – в моховых очесах и почвенной биологической корке исследованных профилей. Наибольшие значения биомассы грибов (0.587 мг/г субстрата) выявлены в почвенной биологической корке профиля Х4Р. Оценивая среднюю биомассу по профилям, заметно их разделение на 2 группы – где меньше грибов (до 0.170 мг/г субстрата – профили Х1Р и Х3Р) и где больше микобиоты (до 0.230 мг/г субстрата – профили Х2Р и Х4Р) (табл. 3). Доля мицелия в изученных образцах варьировала от 9.4 до 79.0%. Более половины биомассы грибов представлено мицелием лишь в верхних и отдельных минеральных горизонтах. Минимум мицелия (вплоть до полного отсутствия) обнаружен нижних горизонтах, в то время как органогенные слои изобиловали гифами грибов, длина которых в них достигала более 240 м/г субстрата. Максимальное развитие мицелия (362.73 м/г субстрата) отмечено в том же слое, что и наибольшая биомасса микобиоты. Длина мицелия микобиоты так же, как биомасса, резко снижается с глубиной в почвенном профиле. Численность одноклеточных грибных пропагул (спор и дрожжей) в изученных почвах составляет 10^4 – 10^5 кл./г субстрата. Большая часть пропагул микобиоты представлена формами мелких размеров (2–3 мкм), доля которых увеличивалась от поверхностных горизонтов (68.8–96.3%) к глубинным (до 100%). Крупные пропагулы диаметром 5–7 мкм выявлены исключительно в органогенных горизонтах, и их численность составляет не более 10^3 кл./г субстрата. В минеральных слоях грибы практически полностью представлены одноклеточными пропагулами (спорами и дрожжами). Около 76% пропагул округлой формы с гладкой поверхностью; 2% округлы и шероховаты; 17% – овальные с гладкой поверхностью; 5% – имеют овальную форму с неровностями.

Для определения доли микобиоты, разлагающей и инактивирующей нефтепродукты, необходимо оценить процент жизнеспособных клеток. Их доля в биомассе грибов существенно варьировала от 34% в надмерзлотном горизонте Сг нефтезагрязненного профиля Х2Р до 82% в моховом очесе профиля Х4Р фоновой почвы. В целом, доля жизнеспособных клеток микобиоты уменьшалась от

поверхностных органогенных горизонтов (74–82%) к глубинным (34–54%). Наибольшее количество жизнеспособных пропагул обнаружено в профиле Х4Р фоновой почвы.

Биомасса грибов в супрагляциальных объектах по порядку значений сопоставима с данными для минеральных подповерхностных горизонтов исследуемых почв вне зависимости от степени загрязнения ими нефтепродуктами. Крупных пропагул грибов в супрагляциальных объектах не выявлено, а длина мицелия составляла несколько десятков м/г субстрата. Доля жизнеспособных клеток микобиоты в супрагляциальных объектах превышала 50%.

Структура биомассы прокариот. Численность прокариот в исследованных объектах колебалась от 1 до 3.5 млрд кл./г субстрата. Наименьшие значения выявлены в минеральных слоях всех профилей. Максимум прокариот обнаружен в моховых очесах. Большая часть образцов характеризуется содержанием не более чем 1.5×10^9 прокариот/г субстрата. Общая биомасса прокариот исследованных образцов составляет от 28.07 до 80.74 мкг/г субстрата. Наименьшие значения выявлены в глубинных минеральных слоях. Наибольшая биомасса прокариот отмечена в поверхностных органогенных горизонтах. В среднем по профилю масса прокариот минимальна (от 36 до 40 мкг/г почвы в профилях Х3Р и Х2Р соответственно) и максимальна (от 51 до 54 мкг/г почвы в профилях Х1Р и Х4Р соответственно). Биомасса прокариот в большинстве образцов преимущественно представлена одноклеточными формами (от 98.2 до 100%). Длина мицелия актиномицетов составляла от 3.94 до 38.73 м/г почвы. Мицелиальные прокариоты в большинстве образцов имели гифы не длиннее 17 м/г субстрата, однако в отдельных органогенных слоях их длина доходила до 39 м/г субстрата. Большая часть (до 78%) клеток прокариот представлена мелкими наноформами.

Для выявления доли активной биомассы микроорганизмов, потенциально участвующей в почвообразовании и разложении нефтепродуктов, необходимо оценить процент жизнеспособных клеток. Их доля в биомассе прокариот существенно варьировала от 29% в надмерзлотном горизонте Сг нефтезагрязненного профиля Х2Р до 86% в моховом очесе профиля Х4Р фоновой почвы). В целом доля жизнеспособных клеток микобиоты уменьшалась от поверхностных органогенных горизонтов (74–86%) к глубинным (29–53%). Наибольшее количество жизнеспособных пропагул обнаружено в профиле Х4Р фоновой почвы.

Величина биомассы прокариот в супрагляциальных объектах по порядку значений сопоставима с данными для минеральных подповерхностных горизонтов и надмерзлотных слоев породы исследуемых почв вне зависимости от уровня содержания

Таблица 2. Структура биомассы грибов

Индекс объекта	Номера образца	Горизонт	Глубина, см	Мицелий (преимущественно $d = 3$ мкм)			Споры (диаметр, мкм)								Общая биомасса спор, мг/г почвы	Доля мелких (2–3 мкм) спор по массе, %	Суммарная биомасса грибов, мг/г почвы	Средняя биомасса грибов в профиле, мг/г почвы	Соотношение живые-мертвые клетки
				биомасса, мг/г	длина, м	доля мицелия в общей био-массе, %	2		3		5								
							численность, шт./г $\times 10^4$	масса, мг/г	численность, шт./г $\times 10^4$	масса, мг/г	численность, шт./г $\times 10^4$	масса, мг/г							
X1P	1	Очс	0	0.305 ± 0.036	241.20 ± 29.39	68.2	8.20 ± 1.13	0.028 ± 0.005	0.101 ± 0.017	8.71 ± 1.21	0.013 ± 0.002	1.39 ± 0.24	0.013 ± 0.002	90.8	0.447 ± 0.080	0.142 ± 0.025	74/26		
	2	W	0–5	0.061 ± 0.007	48.39 ± 5.89	43.0	5.61 ± 0.77	0.019 ± 0.003	0.060 ± 0.010	5.16 ± 0.72	0.003	0.35 ± 0.06	0.082 ± 0.014	96.3	0.142 ± 0.025	52/48			
	3	C	15–20	0.008 ± 0.001	5.96 ± 0.73	15.1	5.61 ± 0.77	0.019 ± 0.003	0.026 ± 0.005	2.56 ± 0.36	–	Нет	0.045 ± 0.008	100	0.053 ± 0.009	41/59			
X2P	4	Очс	0	0.394 ± 0.047	311.55 ± 37.96	77.9	11.65 ± 1.61	0.039 ± 0.007	0.049 ± 0.009	4.19 ± 0.58	0.024 ± 0.004	2.43 ± 0.42	0.112 ± 0.020	78.6	0.506 ± 0.089	0.194 ± 0.034	78/22		
	5	C1	30–40	0.020 ± 0.002	15.63 ± 1.90	39.2	4.75 ± 0.65	0.016 ± 0.002	0.015 ± 0.002	1.29 ± 0.18	–	Нет	0.031 ± 0.005	100	0.051 ± 0.009	57/43			
	6	Cg	40–50	0.012 ± 0.001	9.30 ± 1.13	9.4	6.48 ± 0.89	0.022 ± 0.004	0.094 ± 0.018	8.06 ± 1.11	–	Нет	0.116 ± 0.021	100	0.128 ± 0.023	49/51			
	7	Cg	60–70	–	Нет	0.0	4.75 ± 0.65	0.016 ± 0.002	0.075 ± 0.014	6.45 ± 0.89	–	Нет	0.091 ± 0.015	100	0.091 ± 0.015	34/66			
X3P	8	C	5–15	0.066 ± 0.008	51.34 ± 6.26	40.7	3.89 ± 0.54	0.013 ± 0.001	0.053 ± 0.010	4.52 ± 0.63	0.030 ± 0.006	3.13 ± 0.54	0.096 ± 0.016	68.8	0.162 ± 0.029	0.162 ± 0.028	52/48		
	9	ПБК	0	0.464 ± 0.055	362.73 ± 44.20	79.0	9.08 ± 1.25	0.031 ± 0.006	0.075 ± 0.014	4.46 ± 0.62	0.017 ± 0.003	1.74 ± 0.30	0.123 ± 0.022	86.2	0.587 ± 0.105	0.222 ± 0.039	82/18		
X4P	10	W	0–10	0.109 ± 0.013	85.20 ± 10.38	61.6	3.46 ± 0.48	0.012 ± 0.001	0.049 ± 0.009	4.20 ± 0.58	0.007	0.70 ± 0.12	0.068 ± 0.011	89.7	0.177 ± 0.032	65/35			
	11	Cg	10–20	0.007 ± 0.001	5.58 ± 0.68	8.0	7.35 ± 1.01	0.025 ± 0.004	0.056 ± 0.011	4.84 ± 0.62	–	Нет	0.081 ± 0.015	100	0.088 ± 0.016	53/47			
	12	Csu	40–50	–	Нет	0.0	3.46 ± 0.48	0.012 ± 0.001	0.023 ± 0.004	1.94 ± 0.25	–	Нет	0.035 ± 0.006	100	0.035 ± 0.006	37/63			
SGO1	13	–	–	0.061 ± 0.007	48.68 ± 5.93	68.5	4.25 ± 0.59	0.015 ± 0.002	0.013 ± 0.002	1.10 ± 0.16	–	Нет	0.028 ± 0.004	100	0.089 ± 0.014	–	51/49		
SGO2	14	–	–	0.082 ± 0.009	65.34 ± 7.96	67.2	6.57 ± 0.91	0.023 ± 0.004	0.017 ± 0.003	1.46 ± 0.21	–	Нет	0.040 ± 0.007	100	0.122 ± 0.019	–	61/39		

Таблица 3. Структура биомассы прокариот

Индекс объекта	Номера образца	Горизонта	Глубина, см	Численность клеток прокариот, $\times 10^9$ кл./г	Биомасса одноклеточных прокариот, мкг/г почвы	Длина актиномицетного мицелия, м/г	Биомасса актиномицетного мицелия, мкг/г	Доля мицелия в общей биомассе, %	Общая биомасса прокариот, мкг/г почвы	Средняя биомасса прокариот в профиле, мкг/г почвы	Соотношение мертвые клетки/жизнеспособные/
X1P	1	Отес	0	3.40 ± 0.50	71.69 ± 10.81	17.75 ± 2.68	0.66 ± 0.08	0.9	72.35 ± 10.92	44.27 ± 6.67	83/17
	2	W	0–5	2.51 ± 0.37	52.91 ± 7.98	23.08 ± 3.48	0.86 ± 0.11	1.6	53.77 ± 8.12	–	62/38
	3	C	15–20	0.31 ± 0.05	6.53 ± 0.99	3.94 ± 0.59	0.15 ± 0.02	2.25	6.68 ± 1.00	–	51/49
X2P	4	Отес	0	2.97 ± 0.44	62.50 ± 9.42	14.72 ± 2.22	0.15 ± 0.02	0.2	62.65 ± 9.46	17.56 ± 2.64	74/26
	5	C1	30–40	0.21 ± 0.04	4.42 ± 0.67	6.26 ± 0.95	0.23 ± 0.03	4.95	4.65 ± 0.69	–	54/46
	6	Cg	40–50	0.10 ± 0.02	2.10 ± 0.32	Нет	–	0.0	2.10 ± 0.32	–	45/55
	7	Cg	60–70	0.04 ± 0.01	0.84 ± 0.13	Нет	–	0.0	0.84 ± 0.13	–	29/71
X3P	8	C	5–15	1.68 ± 0.25	35.41 ± 5.34	16.93 ± 2.56	0.63 ± 0.07	1.7	36.04 ± 5.44	36.04 ± 5.44	60/40
X4P	9	ПБК	0	3.75 ± 0.55	79.30 ± 11.96	38.73 ± 5.85	1.44 ± 0.17	1.8	80.74 ± 12.19	38.24 ± 5.77	86/14
	10	W	0–10	2.93 ± 0.43	62.10 ± 9.37	16.23 ± 2.45	0.60 ± 0.06	1.0	62.70 ± 9.46	–	72/28
	11	Cg	10–20	0.38 ± 0.06	8.05 ± 1.22	Нет	–	0.0	8.05 ± 1.22	–	48/52
	12	Csu	40–50	0.07 ± 0.01	1.48 ± 0.22	Нет	–	0.0	1.48 ± 0.22	–	41/59
SGO1	13	–	–	16.75 ± 2.52	10.12 ± 1.52	0.37 ± 0.04	2.2	17.12 ± 2.58	–	47/53	
SGO2	14	–	–	20.57 ± 3.09	15.16 ± 2.28	0.55 ± 0.05	2.6	21.12 ± 3.18	–	44/56	

в них нефтепродуктов. Длина мицелия актиномицетов в супрагляциальных объектах относительно невелика – до 20 м/г субстрата, но его доля в общей биомассе прокариот достигала 2–3%.

Общая биомасса микроорганизмов составляла от 0.081 до 0.666 мг/г субстрата (рис. 4). Наименьшие значения выявлены в глубинном слое 40–50 см профиля Х4Р, а наибольшие – в органогенных

горизонтах всех проанализированных профилей. Микробная биомасса постепенно убывала вниз по профилям почв, часто нося экспоненциальный характер от поверхностным к надмерзлотным горизонтам.

Доля микобиоты в общей микробной биомассе варьировала от 56% в минеральных слоях до 88% в органогенных горизонтах (рис. 5). Минимальное

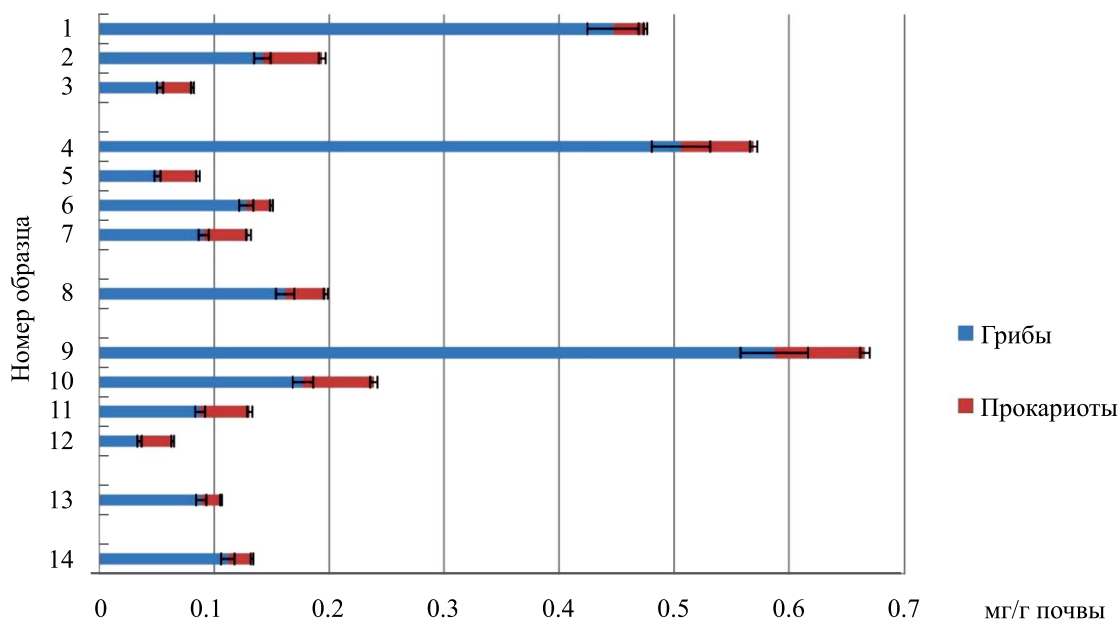


Рис. 4. Общая биомасса микроорганизмов (грибов и прокариот).

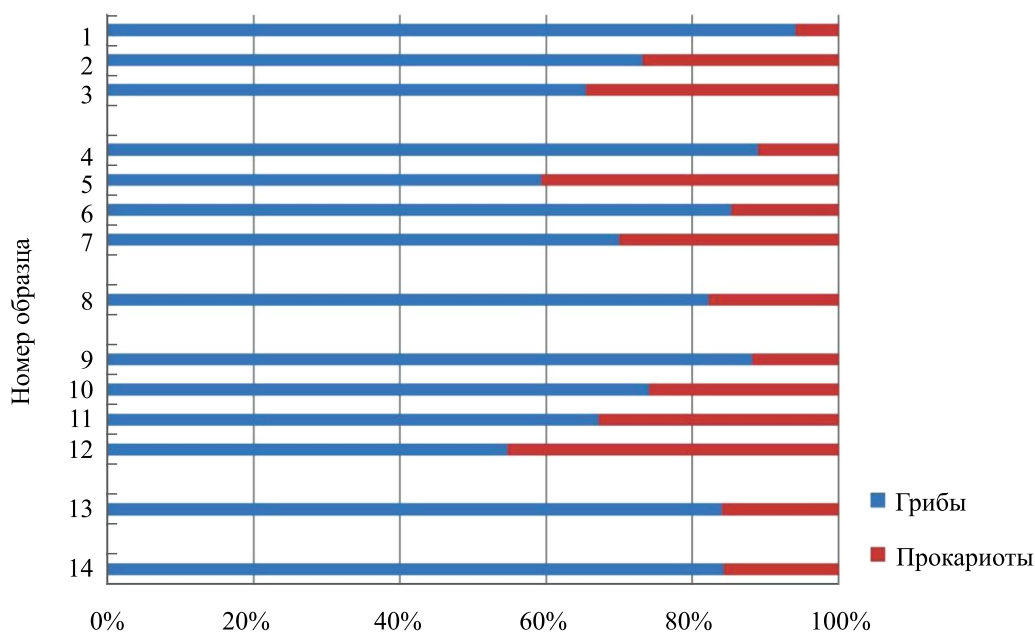


Рис. 5. Доля грибов и прокариот в микробной биомассе.

количество грибов отмечено для надмерзлотного горизонта Сg нефтезагрязненного профиля Х1Р, а максимальное – для органогенного горизонта в моховом очесе профиля Х4Р фоновой почвы.

Важной характеристикой состояния микробных сообществ являлась доля жизнеспособных клеток. В целом их количество максимально (74–86%) для поверхностных органогенных горизонтов и минимально (29–54%) для минеральных надмерзлотных слоев. В почвах, загрязненных нефтепродуктами, доля жизнеспособных клеток на 5–15% меньше, чем в фоновых экосистемах.

Величина биомассы микроорганизмов в супрагляциальных объектах по порядку значений сопоставима с данными для минеральных подповерхностных горизонтов исследуемых почв вне зависимости от степени загрязнения ими нефтепродуктами. Доля жизнеспособных клеток микроорганизмов в супрагляциальных объектах была немногим более половины от общего количества.

ОБСУЖДЕНИЕ

Количественная оценка содержания рибосомальных генов микроорганизмов. Численность копий рибосомальных генов 16S рРНК архей проанализированных образцов о. Хейса на 2–3 порядка ниже, по сравнению с результатами для пелоземов, карбопетроземов, петроземов и криоземов севера Новой Земли [18], других арктических территорий [46, 52]. Представители данного домена обычно характеризуются адаптацией лишь к специфическим условиям окружающей среды и чрезвычайно чувствительны к ее изменениям [5, 34], что, по-видимому, ставит архей в минорные позиции микробиома почв Высокой Арктики.

Количество копий рибосомальных генов 16S рРНК бактерий в исследованных объектах ЗФИ на порядок ниже по сравнению с пелоземами, карбопетроземами, петроземами и криоземами севера Новой Земли [18], оторфованных почв Большеземельской тундры [59] и тундровых почв Аляски [38, 48]. Это подтверждает многочисленные свидетельства о повышенной устойчивости бактерий к экстремально низким температурам и олиготрофным условиям полярных областей [9, 26, 43].

Численность копий рибосомальных генов ITS рРНК грибов изученных объектов о. Хейса сопоставима с таковой других территорий ЗФИ [15, 18, 19], но на порядок выше, чем в пелоземах, карбопетроземах, петроземах и криоземах севера Новой Земли [18]. Вероятно, это можно объяснить локально большим содержанием органического вещества в некоторых биотопах о. Хейса, где были отобраны образцы. Микобиота наиболее быстро, по сравнению с другими микроорганизмами, увеличивает свою численность при наличии даже

небольшого количества органического вещества в субстрате [30].

Закономерным кажется максимальное обилие копий рибосомальных генов всех групп микроорганизмов в поверхностных органогенных горизонтах, поскольку все грибы и большинство прокариот, населяющие почву, являются копитрофами [5], а цианобактерии могут доминировать лишь на дневной поверхности полярных грунтов [42]. Профили с максимумом копий рибосомальных генов микроорганизмов в подповерхностных и надмерзлотных горизонтах содержат низкое количество органического вещества, однако прокариоты и грибы стараются избежать негативных абиотических факторов (резкие перепады температура, повышенный уровень ультрафиолетового излучения, сильные ветры и др.), развиваясь на некотором отдалении от границы почва–воздух. Для Высокой Арктики и Антарктики характерен подобный эффект аккумуляции микроорганизмов в подповерхностных слоях безгумусных почв, “каменных мостовых” и реголитов [9, 12, 14, 16].

Отмечено, что нефтезагрязненные почвы содержат меньшую биомассу, но большую численность рибосомальных генов микроорганизмов по сравнению с фоновыми почвами. Это может свидетельствовать об использовании углеводов микроорганизмами в качестве питательного субстрата [30, 54, 57]. Таким образом, почвенный микробиом ЗФИ смог адаптироваться к условиям высоких концентраций нефтепродуктов. Высокая численность микроорганизмов будет способствовать интоксикации и восстановлению местных экосистем после антропогенного нарушения.

Уровень биомассы прокариот по профилям исследованных почв Новой Земли коррелирует с численностью копий рибосомальных генов 16S рРНК бактерий, но не архей, видимо, потому что обилие последних мало во всех образцах. Преобладание количества архей над бактериями в почвах показано многими микробиологами [31, 34, 59].

Сравнение распределения биомассы микобиоты и численности копий рибосомальных генов ITS рРНК грибов по изученным почвенным профилям во многом дает противоречивые результаты. В отдельных горизонтах, где грибная биомасса велика, низка численность генов, и наоборот. Полагаем, полученные данные по количественной ПЦР для грибов связаны с неравномерным распределением генетической информации в клетках микобиоты, которые могут содержать как по одному, так и по несколько ядер с различной концентрацией ДНК [36]. Кроме того, значительная часть рРНК грибов может находиться непосредственно в почве, а не клетках [29].

Численность копий функционального гена *alkB* в исследованных почвах сравнима со значениями,

полученными исследователями ранее. Так, в образцах дерново-подзолистых почв, загрязненных полициклическими ароматическими углеводородами, отобранных на территории угледобывающего завода (осуществляющего свою деятельность в отрасли химической и нефтеперерабатывающей промышленности), значения концентрации гена алканмонооксигеназы, определенные с помощью метода RT-PCR, составляли от 2500 до 3100 копий/г почвы, в то время как для фоновых территорий этих почв величины были на порядок ниже и колебались в пределах от 35 до 830 копий/г почвы [44].

Количество копий гена *alkB* резко уменьшается от поверхностных горизонтов к глубинным. Полагаем, это может быть связано с тем, что максимальное содержание нефтепродуктов при разливах обычно находится в верхних слоях почв и грунтов [1].

В надмерзлотном горизонте материнской породы профиля Х4Р численность копий гена *alkB* крайне мала, что может быть обусловлено минимальным содержанием здесь нефтепродуктов.

При анализе биотехнологического потенциала прокариотного компонента современных, реликтовых почв и грунтов Антарктиды авторы отмечают, что внесение ресурса субстрата увеличивает долю генов, ответственных за деградацию ксенобиотиков [18]. Например, при внесении полисахарида (хитина) увеличивается количество генов, ответственных за деградацию полициклических ароматических углеводородов. Стоит заметить, что присутствие функционального гена не обязательно означает его активность, однако позволяет говорить о потенциальной возможности к осуществлению процессов, кодируемых данными генами. Наибольшее число функциональных генов, маркирующих процессы биodeградации ксенобиотиков, обнаружено в образцах многолетнемерзлых грунтов, что говорит о высоком биотехнологическом потенциале реликтовых микробных сообществ [18].

Структура биомассы грибов. В исследованных почвах и супрагляциальных объектах о. Хейса значения биомассы микобиоты сопоставимы с таковыми для других почв ЗФИ [13, 19], но в 1.5 раза выше по сравнению с севером Новой Земли [14] и в 1.2 раза ниже, чем для Шпицбергена [15]. Длина грибного мицелия в проанализированных объектах о. Хейса несколько выше, чем в почвах других островов ЗФИ [13, 19], гораздо (в 2 раза) больше по сравнению с таковой для почв севера Новой Земли (–14), однако в 1.5 раза ниже, чем в грунтах Шпицбергена [15]. По-видимому, это может быть обусловлено климатическими особенностями, каждой из рассмотренных территорий, поскольку среднегодовые температуры на ЗФИ ниже, чем на Шпицбергене, но выше по сравнению с севером Новой Земли [4, 22, 33]. Необходимо отметить, что фактор обилия нефтепродуктов может существенно

лимитировать развитие почвенной микобиоты [54].

Тенденция распределения длины мицелия микобиоты по профилям изученных почв сходна с таковой по биомассе грибов. Большая часть биомассы микобиоты сконцентрирована в поверхностных органогенных горизонтах, где мицелий длинный. В то время как нижние слои обеднены грибными пропагулами. Вероятно, это происходит как со снижением содержания органического вещества, так и с уменьшением содержания кислорода в минеральных горизонтах [23]. Базидиомицетный пряжковый мицелий грибов обнаруживались крайне редко (менее 1% от всех гиф) и лишь в поверхностных органогенных слоях. Такой факт косвенно может свидетельствовать о низком количестве микоризных симбиозов, характерном для высокоарктических ценозов [50].

Количество одноклеточных пропагул грибов по порядку значений соответствует численности таковой для почв других островов ЗФИ [13, 19]. В целом их обилие логично снижается вниз по профилю исследованных почв вслед за биомассой и длиной мицелия микобиоты. Однако для отдельных минеральных слоев (горизонт Сg нефтезагрязненного профиля Х2Р и горизонта Сg профиля фоновой почвы Х4Р) отмечали неожиданные повышения числа одноклеточных пропагул. Такая закономерность может свидетельствовать о значительной активности олиготрофных дрожжей, развитие которых в почве зачастую связано в первую очередь с обилием свободной воды, а не легкодоступной органики [27]. Дрожжи, в основном, одноклеточны, поэтому их трудно отличить от покоящихся грибных пропагул (спор, конидий и др.) [9]. Отмеченное снижение численности крупных пропагул диаметра 5–7 мкм вниз по почвенному профилю может быть связано с отсутствием многих таксонов грибов в минеральных горизонтах в связи с менее благоприятными условиями (уменьшение содержания органического вещества и кислорода; также уменьшение числа корней растений, необходимых для симбиозов).

Доля жизнеспособных пропагул микобиоты в проанализированных образцах ЗФИ существенно выше (до 82%) по сравнению с почвогрунтами Восточной Антарктиды (до 65%) [9, 12]. Такая информация подтверждает гипотезу о том, что развитие грибов в условиях Высокой Арктики менее ограничено абиотическими факторами, по сравнению с Антарктикой [42].

Структура биомассы прокариот. Численность прокариот проанализированных почв и супрагляциальных объектах о. Хейса сопоставима с таковой для других островов архипелага [19] на порядок ниже по сравнению с аналогичным показателем почв Шпицбергена [15], но в 1.5 раза выше,

чем для севера Новой Земли [19]. Это можно объяснить более скудной растительностью и малой доступностью органического вещества для микроорганизмов. В то же время количество прокариот в отдельных органогенных слоях изученных образцов достигает 3.5 млрд/г субстрата, что сопоставимо со значениями для подзолистых почв [21, 23]. До 78% обнаруженных на ЗФИ клеток прокариот представлены мелкими наноформами, что характерно для экстремально холодных экосистем [9, 14, 19]. Доля жизнеспособных пропагул прокариот в проанализированных образцах ЗФИ существенно выше (до 86%) по сравнению с почвогрунтами Восточной Антарктиды (до 71%) [9].

Структура общей биомассы микроорганизмов. Показано, что биомасса микроорганизмов исследованных территорий ЗФИ составляет от 81 до 666 мкг/г почвы, что сопоставимо со значениями для почв соседнего архипелага Шпицберген [15], в 1.3 раза ниже, чем для других островов ЗФИ [16], но почти в 2 раза выше, чем для северной оконечности Новой Земли.

Практически вся биомасса (до 80%) для большинства изученных образцов о. Хейса сосредоточена в поверхностном горизонте так же, как для других почв ЗФИ [15, 17, 18], северной части Новой Земли [14] и северной части Таймыра [48]. Предположительно, этот факт может быть объяснен относительно высоким обилием корней, которые могут существенно повышать вокруг себя численность микроорганизмов особенно в почвах бедных питательными веществами [45].

Доля жизнеспособных пропагул микроорганизмов проанализированных образцах ЗФИ существенно выше (до 86%) по сравнению с почвогрунтами Восточной Антарктиды (до 68%) [9, 12]. Такая информация подтверждает гипотезу о том, что развитие как про-, так и эукариот в условиях Высокой Арктики менее лимитировано абиотическими факторами, чем в Антарктике [39, 56].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследованные супрагляциальные объекты содержат низкую биомассу микроорганизмов, сопоставимую по значениям с надмерзлотными минеральными горизонтами изученных почв. В биомассе микроорганизмов супрагляциальных объектов преобладают грибы, а в почвах о. Хейса доля микобиоты снижается вниз по профилям. Численность копий генов всех микроорганизмов в супрагляциальных объектах высока и сопоставима со значениями для поверхностных органогенных горизонтов исследованных почв.

Проанализированные нефтезагрязненные почвы и супрагляциальные объекты о. Хейса содержали меньшее количество биомассы, но большую

численность копий рибосомальных генов микроорганизмов по сравнению с фоновыми почвами. Это может свидетельствовать, что почвенный микробиом ЗФИ смог не только адаптироваться к условиям экстремальных концентраций нефтепродуктов, но и, возможно, использованию углеводов в качестве питательного субстрата. Высокая численность микроорганизмов в исследованных объектах, по-видимому, способствует постепенной интоксикации и восстановлению местных экосистем после антропогенного нарушения. Таким образом, некоторое количество нефтепродуктов в арктических экосистемах может способствовать развитию микробного сообщества почв и почвоподобных тел на ледниках. До сих пор экологические механизмы данного процесса не ясны, но их изучение может стать перспективной темой биоремедиации наземных экосистем.

Судя по высоким показателям количественных характеристик исследованных почв и супрагляциальных объектов Земли Франца-Иосифа, микроорганизмы могут активно участвовать в почвообразовании и биогеохимических циклах ледниковых экосистем. Из-за того, что большая часть биомассы микроорганизмов проанализированных образцов представлена грибами, можно предположить ведущую роль микобиоты в почвенно-биологических процессах экосистем на ледниках.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы благодарят проект “Арктический плавающий университет” САФУ им. М.В. Ломоносова и лично Л.Н. Драчкову, А.А. Сабурова за организацию полевых работ. Авторы выражают признательность сотрудникам отдела географии и эволюции почв Института географии РАН и лично С.В. Горячкину за помощь в определении таксономической принадлежности исследованных почв.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ № 20-17-00212 (отбор почв и супрагляциальных объектов, оценка биомассы микроорганизмов, численность копий генов 16S рРНК архей, бактерий и ITS рРНК грибов) и РФФИ № 24-14-00108 (оценка численности копий гена *alkB*, ответственного за синтез алкан-монооксигеназы для деструкции *n*-алканов углеводов).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Волкомирская Л.Б., Гулевич О.А., Добрянский А.С., Кривошеев Н.В., Крюков Д.Р., Резников А.Е.* Георадарное исследование загрязнения грунта на архипелаге Земля Франца-Иосифа // Инженерный вестник Дона. 2020. № 7(67). С. 15–21.
2. *Горячкин С.В., Мергелов Н.С., Таргульян В.О.* Генезис и география почв экстремальных условий: элементы теории и методические подходы // Почвоведение. 2019. № 1. С. 5–19.
3. *Горячкин С.В.* География экстремальных почв и почвоподобных систем // Вестник РАН. 2022. № 92(6). С. 564–571.
4. *Дженюк С.Л.* Климатообразующие факторы и климатические особенности Земли Франца-Иосифа // Тр. Кольского научного центра РАН. 2014. № 4(23). С. 61–69.
5. *Добровольская Т.Г., Звягинцев Д.Г., Чернов И.Ю., Головченко А.В., Зенова Г.М., Лысак Л.В., Манучарова Н.А., Марфенина О.Е., Полянская Л.М., Степанов А.Л., Умаров М.М.* Роль микроорганизмов в экологических функциях почв // Почвоведение. 2015. № 9. С. 1087–1096. <https://doi.org/10.7868/S0032180X15090038>
6. *Зазовская Э.П., Мергелов Н.С., Шишков В.А., Долгих А.В., Добрянский А.С., Лебедева М.П., Турчинская С.М., Горячкин С.В.* Криокониты как факторы развития почв в условиях быстрого отступания ледника Альдегонда, Западный Шпицберген // Почвоведение. 2022. № 3. С. 281–295. <https://doi.org/10.31857/S0032180X22030157>
7. *Звягинцев Д.Г.* Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1991. С. 60.
8. *Крюков Д.Р., Кирилов А.Г.* Результаты геоэкологического обследования и мониторинг нефтезагрязненных участков на островах Земли Франца-Иосифа // Актуальные проблемы экологии и природопользования. 2019. С. 71–75.
9. *Лысак Л.В., Максимова И.А., Никитин Д.А., Иванова А.Е., Кудинова А.Г., Соина В.С., Марфенина О.Е.* Микробные сообщества почв Восточной Антарктиды // Вестник Московского университета. Сер.16, биология. 2018. № 73(3). С. 132–140.
10. *Манучарова Н.А., Коваленко М.А., Алексеева М.Г., Бабенко А.Д., Степанов А.Л.* Биотехнологический потенциал прокариотного компонента современных, реликтовых почв и грунтов Антарктиды // Почвоведение. 2016. № 5. С. 550–566.
11. *Манучарова Н.А., Трошева Е.В., Кольцова Е.М., Демкина Е.В., Караевская Е.В., Ривкина Е.М., Марданов А.В., Эль-Регистан Г.И.* Характеристика структуры прокариотного комплекса многолетних мерзлых грунтов Антарктиды на основании данных молекулярно-биологических методов // Микробиология. 2016. Т. 85. № 1. С. 83–91.
12. *Марфенина О.Е., Никитин Д.А., Иванова А.Е.* Структура грибной биомассы и разнообразие культивируемых микромицетов в почвах Антарктиды (станции Прогресс и Русская) // Почвоведение. 2016. № 8. С. 991–999. <https://doi.org/10.7868/S0032180X16080074>
13. *Никитин Д.А., Лысак Л.В., Мергелов Н.С., Долгих А.В., Зазовская Э.П., Горячкин С.В.* Микробная биомасса, запасы углерода и эмиссия CO₂ в почвах Земли Франца-Иосифа: высокоарктические тундры или полярные пустыни? // Почвоведение. 2020. № 4. С. 1–19. <https://doi.org/10.31857/S0032180X20040115>
14. *Никитин Д.А., Лысак Л.В., Бадмадашиев Д.В., Холод С.С., Мергелов Н.С., Долгих А.В., Горячкин С.В.* Биологическая активность почв в условиях покровного оледенения в северной части архипелага Новая Земля // Почвоведение. 2021. № 10. С. 1207–1230. <https://doi.org/10.31857/S0032180X21100087>
15. *Никитин Д.А., Лысак Л.В., Бадмадашиев Д.В.* Молекулярно-биологическая характеристика почвенного микробиома северной части архипелага Новая Земля // Почвоведение. 2022. № 8. С. 1035–1045. <https://doi.org/10.31857/S0032180X22080135>
16. *Никитин Д.А., Марфенина О.Е., Кудинова А.Г., Лысак Л.В., Мергелов Н.С., Долгих А.В., Лупачев А.В.* Микробная биомасса и биологическая активность почв и почвоподобных тел береговых оазисов Антарктиды // Почвоведение. 2017b. № 9. С. 1122–1133. <https://doi.org/10.7868/S0032180X17070073>
17. *Никитин Д.А., Семенов М.В.* Характеристика микробиоты почв Земли Франца-Иосифа методами микробиологического посева и ПЦР в реальном времени // Микробиология. 2022. № 91 (1), С. 62–74. <https://doi.org/10.31857/S0026365622010098>
18. *Никитин Д.А., Семенов М.В., Тхакахова А.К., Железова А.Д., Бгажба Н.А., Кутюва О.В.* Численность копий рибосомальных генов микробиоты в почвах и почвоподобных телах Земли Франца-Иосифа и Новой Земли // Комплексная научно-образовательная экспедиция. Арктический Плавучий Университет-2017. 2017a. С. 35–39.
19. *Никитин Д.А., Семенов М.В., Семиколенных А.А., Максимова И.А., Качалкин А.В., Иванова А.Е.* Биомасса грибов и видовое разнообразие культивируемой микробиоты почв и субстратов о. Нортбрук (Земля Франца-Иосифа) // Микология и фитопатология. 2019. № 53(4). С. 210–222. <https://doi.org/10.1134/S002636481904010X>
20. *Полянская Л.М., Звягинцев Д.Г.* Содержание и структура микробной биомассы как показатели экологического состояния почв // Почвоведение. 2005. № 6. С. 706–714.
21. *Полянская Л.М., Суханова Н.И., Чакмазян К.В., Звягинцев Д.Г.* Особенности изменения структуры микробной биомассы почв в условиях залежи // Почвоведение. 2012. № 7. С. 792–798.

22. Семенков И.Н. Физико-географическая характеристика архипелага Новая Земля (литературный обзор). 2020. С. 1–40.
<https://doi.org/10.13140/RG.2.2.15583.20642>
23. Хабибуллина Ф.М., Кузнецова Е.Г., Васенева И.З. Микробиоты подзолистых и болотно-подзолистых почв в подзоне средней тайги на северо-востоке европейской части России // Почвоведение. 2014. № 10. С. 1228–1228.
<https://doi.org/10.7868/S0032180X14100049>
24. Шупилов Э.В., Карякин Ю.В. Дайки острова Хейса (архипелаг Земля Франца-Иосифа): тектоническая позиция и геодинамическая интерпретация // Доклады РАН. 2014. Т. 457. № 3. С. 327–331.
<https://doi.org/10.7868/S0869565214210233>
25. Abakumov E., Tembotov R., Polyakov V., Ivanov M., Mavlyudov B., Kushnov I., Nizamutdinov T., Yaneva R., Zhiyanski M. Concentration of Trace Elements in Cryoconites of Mountain and Polar Regions of the World // Geosciences. 2023. V. 13. P. 188.
<https://doi.org/10.3390/geosciences13060188>
26. Baldrian P. The known and the unknown in soil microbial ecology // FEMS microbiology ecology. 2019. V. 95(2). P. fiz005.
<https://doi.org/10.1093/femsec/fiz005>
27. Botha A. Yeasts in soil // Biodiversity and ecophysiology of yeasts. Berlin: Springer, 2006. P. 221–240.
https://doi.org/10.1007/3-540-30985-3_11
28. Box J.E., Colgan W.T., Christensen T.R., Schmidt N.M., Lund M., Parmentier F.J.W., Brown R., Bhatt U.S., et al. Key indicators of Arctic climate change: 1971–2017 // Environ. Research Lett. 2019. V. 14(4). P. 045010.
<https://doi.org/10.1088/1748-9326/aafc1b>
29. Carini P., Marsden P.J., Leff J.W., Morgan E.E., Strickland M.S., Fierer N. Relic DNA is abundant in soil and obscures estimates of soil microbial diversity // Nature Microbiology. 2016. V. 2(3). P. 1–6.
<https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.242>
30. Ceci A., Pinzari F., Russo F., Persiani A.M., Gadd G.M. 2019. Roles of saprotrophic fungi in biodegradation or transformation of organic and inorganic pollutants in co-contaminated sites // Appl. Microbiol. Biotechnol. V. 103. P. 53–68.
<https://doi.org/10.1007/s00253-018-9451-1>
31. Chernov T.I., Zhelezova A.D., Kutovaya O.V., Makeev A.O., Tkhakakhova A.K., Bgazhba N.A., Kurbanova F.G., Rusakov A.V., Puzanova T.A., Khokhlova O.S. Comparative analysis of the structure of buried and surface soils by analysis of microbial DNA // Microbiology. 2018. V. 87(6). P. 833–841.
<https://doi.org/10.1134/S0026261718060073>
32. Edwards A., Rassner A.M., Anesio, Hegarty M., Hodson A.J., Irvine-Fynn T.D.L., Rassner S.M.E., Sattler B. Contrasts between the cryoconite and ice-marginal bacterial communities of Svalbard glaciers // Polar Research. 2013. V. 32. P. 19468.
<https://doi.org/10.3402/polar.v32i0.19468>
33. Hanssen-Bauer I., Førland E.J., Hisdal H., Mayer S., Sandø A.B., Sorteberg A. Climate in Svalbard 2100 // A knowledge base for climate adaptation. 2019. V. 1. P. 7–112.
34. Garrett R.A., Klenk H.P. Archaea: evolution, physiology, and molecular biology. John Wiley & Sons, 2008. 377 p.
35. Gaspar M.L., Cabello M.N., Pollero R., Aon M.A. Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a Measure of Fungal Biomass in Soil // Current Microbiol. 2001. V.42(5). P. 339–344.
<https://doi.org/10.1007/s002840010226>
36. Glöckner F.O., Yilmaz P., Quast C., Gerken J., Beccati A., Ciuprina A., Brunsa G., Yarzac P., Pepliesc J., Westram R., Ludwig W. 25 years of serving the community with ribosomal RNA gene reference databases and tools // J. Biotechnology. 2017. V. 261. P. 169–176.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.06.1198>
37. Jacoby R., Peukert M., Succurro A., Koprivova A., Kopriva S. The role of soil microorganisms in plant mineral nutrition – current knowledge and future directions // Frontiers Plant Sci. 2017. V. 8. P. 1617.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01617>
38. Kaczmarek Ł., Jakubowska N., Celewicz-Gołdyn S., Zawierucha K. The microorganisms of cryoconite holes (algae, Archaea, bacteria, cyanobacteria, fungi, and Protista): a review // Polar Record. 2016. V. 52(2). P. 176–203.
<https://doi.org/10.1017/S0032247415000637>
39. Kim H.M., Jung J.Y., Yergeau E., Hwang C.Y., Hinzman L., Nam S., Hong S.G., Kim O., Chun J., Lee Y.K. Bacterial community structure and soil properties of a subarctic tundra soil in Council, Alaska // FEMS Microbiol. Ecol. 2014. V. 89(2). P. 465–475.
<https://doi.org/10.1111/1574-6941.12362>
40. Kutuzov S., Shahgedanova M., Krupskaya V., Goryachkin S. Optical, geochemical and mineralogical characteristics of light-absorbing impurities deposited on Djankuat Glacier in the Caucasus mountains // Water. 2021. V. 13(21). P. 2993.
<https://doi.org/10.3390/w13212993>
41. Lopes M.A., Fischman O., Gambale W., Correa B. Fluorescent method for studying the morphogenesis and viability of dermatophyte cells // Mycopathologia. 2002. V. 156(2). P. 61–66.
<https://doi.org/10.1023/A:1022972222194>
42. Makhalanyane T.P., Valverde A., Velázquez D., Gunnigle E., Van Goethem M.W., Quesada A., Cowan D.A. Ecology and biogeochemistry of cyanobacteria in soils, permafrost, aquatic and cryptic polar habitats // Biodiversity and Conservation. 2015. V. 24(4). P. 819–840.
<https://doi.org/10.1007/s10531-015-0902-z>

43. *Malard L.A., Pearce D.A.* Microbial diversity and biogeography in Arctic soils // *Environ. Microbiol. Rep.* 2018. V. 10(6). P. 611–625.
<https://doi.org/10.1111/1758-2229.12680>
44. *Manucharova N.A., Pozdnyakov L.A., Vlasova A.P., Yanovich A.S., Ksenofontova N.A., Kovalenko M.A., Stepanov P.Y., Gennadiev A.N., Golovchenko A.V., Stepanov A.L.* Metabolically active prokaryotic complex in grassland and forests' sod-podzol under polycyclic aromatic hydrocarbon influence // *Forests.* 2021. V. 12(8). P. 1103–1117.
<https://doi.org/10.3390/f12081103>
45. *Mapelli F., Marasco R., Fusi M., Scaglia B., Tsiamis G., Rolli E., Fodelianakis S.* et al. The stage of soil development modulates rhizosphere effect along a High Arctic desert chronosequence // *The ISME J.* 2018. V. 12(5). P. 1188–1198.
<https://doi.org/10.1038/s41396-017-0026-4>
46. *Porter C., Morin P., Howat I., Noh M.J., Bates B., Peterman K.* et al. Data from: ArcticDEM. Version 3. Harvard Dataverse. V1. 2018.
<https://doi.org/10.7910/DVN/OHHUKH>
47. *Pittino F., Buda J., Ambrosini R., Parolini M., Crosata A., Zawierucha K., Franzetti A.* Impact of anthropogenic contamination on glacier surface biota // *Current Opinion in Biotechnology.* 2023. V. 80. P. 102900.
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2023.102900>
48. *Schmidt N., Bölter M.* Fungal and bacterial biomass in tundra soils along an arctic transect from Taimyr Peninsula, central Siberia // *Polar Biology.* 2002. V. 25(12). P. 871–877.
<https://doi.org/10.1007/s00300-002-0422-7>
49. *Singh P., Singh S.M.* Characterisation of yeasts and filamentous fungi isolated from cryoconite holes of Svalbard, Arctic // *Polar Biology.* 2012. V. 35. P. 575–583.
<https://doi.org/10.1007/s00300-011-1103-1>
50. *Smith S.E. Read D.* Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, 2010. P. 1–796.
51. *Stibal M., Tranter M.* Laboratory investigations of inorganic carbon uptake by cryoconite debris from Werenskioldbreen, Svalbard // *J. Geophys. Research.* 2007. V. 112(G4). P. G04S33.
52. *Tripathi B.M., Kim H.M., Jung J.Y., Nam S., Ju H.T., Kim M., Lee Y.K.* Distinct taxonomic and functional profiles of the microbiome associated with different soil horizons of a moist tussock tundra in Alaska // *Frontiers in Microbiology.* 2019. V. 10. P. 1442.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01442>
53. *Vincent W.F.* Arctic climate change: Local impacts, global consequences, and policy implications // *The Palgrave Handbook of Arctic Policy and Politics.* 2020. P. 507–526.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-20557-7_31
54. *Wang C., Li Z., Geng X., Zhang H.* Ecological remediation of petroleum contaminated soil based on microbial degradation // *Appl. Ecol. Environ. Res.* 2020. V. 18(2). P. 2727–2746.
http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1802_27272746
55. *Warren S.G.* Light-absorbing impurities in snow: a personal and historical account // *Frontiers Earth Sci.* 2019. V. 6. P. 250.
<https://doi.org/10.3389/feart.2018.00250>
56. *Wei S.T., Lacap-Bugler D.C., Lau M.C., Caruso T., Rao S., de Los Rios A., Archer S.K., Chiu J.M.Y., Higgins C., Van Nostrand J.D., Zhou J., Hopkins D.W., Pointing S.B.* Taxonomic and functional diversity of soil and hypolithic microbial communities in Miers Valley, McMurdo Dry Valleys, Antarctica // *Frontiers Microbiol.* 2016. V. 7. P. 1642.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01642>
57. *Whyte L.G., Schultz A., van Beiden J.B., Luz A.P., Pellizari V., Labbé D., Greer C.W.* Prevalence of alkane monooxygenase genes in Arctic and Antarctic hydrocarbon-contaminated and pristine soils // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2002. V. 41. P. 141–150.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2002.tb00975.x>
58. *Zawierucha K., Trzebny A., Buda J., Bagshaw E., Franzetti A., Dabert M., Ambrosini R.* Trophic and symbiotic links between obligate-glacier water bears (Tardigrada) and cryoconite microorganisms // *Plos One.* 2022. V. 17(1). P. e0262039.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262039>
59. *Zhelezova A., Chernov T., Tkhakakhova A., Xenofontova N., Semenov M., Kutovaya O.* Prokaryotic community shifts during soil formation on sands in the tundra zone // *PLoS One.* 2019. V. 14(4). P. e0206777.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206777>

Microbiome of Soils and Supraglacial Objects in Background and Oil Polluted Ecosystems Hayes Island (Franz Joseph Land Archipelago)

D. A. Nikitin^{1, 3, *}, N. A. Manucharova², and A. S. Dobryansky³

¹*Dokuchaev Soil Science Institute, Moscow, 119017 Russia*

²*Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia*

³*Institute of Geography of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 119017 Russia*

**e-mail: dimnik90@mail.ru*

Using luminescent microscopy and real-time PCR, the microbiome of soils and supraglacial objects in the background and oil-contaminated ecosystems of the island was studied Hayes Island, part of the Franz Josef Land archipelago. Biomass of microorganisms ranged from 81 to 666 $\mu\text{g/g}$ of substrate; most of it (up to 88%) is represented by fungi. Length of fungal mycelium reached more than 360 m/g of substrate. The number of prokaryotes varied from 4.0×10^7 to 3.75×10^9 cells/g of substrate; the length of actinomycete hyphae reached 40 m/g of substrate. Up to 78% of the detected prokaryotic cells are represented by small nanoforms, which is typical for extreme ecosystems. Share of viable cells of microorganisms is maximum (74–86%) for surface organogenic horizons and minimum (29–54%) for mineral suprapermafrost layers. Prokaryotic complex was dominated by bacteria (from 5.14×10^5 to 5.05×10^{10} 16S rRNA copies/g of soil), but not by archaea, from 8.46×10^5 to 2.28×10^9 16S rRNA copies/g of substrate. Amount of FJL fungal genetic material ranged from 6.47×10^4 to 8.67×10^{10} ITS rRNA copies/g soil. Number of copies of the *alkB* gene (synthesis of alkane monooxygenase for the destruction of hydrocarbon n-alkanes) varied from 1.2×10^1 to 1.8×10^5 /g of substrate and sharply decreased from the surface horizons to the deep ones. Oil-contaminated soils and supraglacial objects contained a smaller biomass, however, a greater number of ribosomal genes of microorganisms compared to the background ecosystems. An exponential decrease in the analyzed quantitative parameters of microorganisms from surface to deep soil horizons was registered.

Keywords: Arctic, extreme ecosystems, soils, number of copies of ribosomal genes, functional *alkB* genes, biomass of microorganisms, prokaryotes, fungi