

Выделение и характеристика нитрифицирующих бактерий почв углеотвалов

Научный руководитель – Минкина Татьяна Михайловна

Пуликова Е.П.¹, Дёмин К.А.²

1 - Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Дмитрия Иосифовича Ивановского, Кафедра почвоведения и оценки земельных ресурсов, Ростов-на-Дону, Россия, *E-mail: epulikova@sfnu.ru*; 2 - Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Дмитрия Иосифовича Ивановского, Кафедра биохимии и микробиологии, Ростов-на-Дону, Россия, *E-mail: kostyakollise@gmail.com*

Нитрификация – это один из процессов трансформации азота в почвах, в результате которого аммоний окисляется до нитратов. В анаэробных условиях нитрат является акцептором электронов и способствует деградации ПАУ. Поэтому использование консорциумов нитрификаторов и ПАУ-деструкторов может стать перспективным методом ремедиации почв, загрязнённых ПАУ. Целью нашего исследования стало получение и характеристика накопительной культуры нитрифицирующих микроорганизмов из почв углеотвалов.

Согласно результатам изучения активности нитрификации почв углеотвалов Ростовской области и анализу метагенома в качестве источника нитрификаторов была выбрана почва углеотвала шахты Майская с наибольшей активностью нитрификации и высокой численностью нитрификаторов. Свежая почва вносилась в колбу со средой Виноградского в соотношении 1:10 (ГОСТ Р 54653-2011). По истечении трех недель накопительную культуру нитрификаторов в течение 4 месяцев переносили раз в 3 недели в стерильную среду Виноградского в соотношении 1 к 10.

ДНК из почвы и накопительной культуры выделялась с помощью набора FastDNA spin kit. Библиотеки готовили с помощью NEBNext Ultra II, ультразвуковую фрагментацию - с помощью Covaris S220. Секвенирование проводили на платформе MGI (DNBSEQ). Контроль качества прочтений проводили с помощью FastQC и trimmomatic, удаление человеческой ДНК - с помощью BMTagger, классификацию прочтений - с помощью kraken2.

В почвенном метагеноме среди всех прокариот преобладали *Streptomyces* – 7,4%, *Sphingomonas* – 4,18%, в накопительной культуре преобладали рода *Nitrosomonas* – 16,9%, *Pseudomonas* – 4,85%, *Streptomyces* – 4,8% и *Nitrospira* – 2,17. Доля нитрифицирующих бактерий в накопительной культуре относительно всех классифицированных бактерий и архей составила 19,1% , в почвенном образце – 0,2%, что говорит об их успешном накоплении. Показано, что сообщество нитрификаторов накопительной культуры представлено доминирующими родами *Nitrosomonas* и *Nitrospira*.

Таким образом, рода *Nitrosomonas* и *Nitrospira* увеличили свою численность при накоплении в 1600 и в 30 раз соответственно. В дальнейшем, использование микробного консорциума, состоящего из денитрифицирующих ПАУ-деструкторов и автотрофных нитрификаторов позволит эффективно утилизировать ПАУ как в аэробных, так и в анаэробных условиях.

Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2023-587.