

УДК 579.26

DOI: 10.31040/2222-8349-2026-0-3-87-93

**МЕТАБАРКОДИРОВАНИЕ АБОРИГЕННЫХ ПРОКАРИОТНЫХ СООБЩЕСТВ
НЕФТЕШЛАМОВ РАЗНОГО СРОКА ХРАНЕНИЯ
НА ТЕРРИТОРИИ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ**

© Е.В. Моисеева, А.А. Худокормов, М.Н. Круглова, А.А. Самков, Н.Н. Волченко

Изучено генетическое разнообразие прокариотного сообщества и углеводородный состав нефтешламов длительного срока хранения (около 25 лет) и текущего накопления (1 год) в Краснодарском крае. Методом газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектором (ГХ-ПИД) на хроматографе «Shimadzu GC 2010» выявлено уменьшение в 1.3 раза количества средней фракции и снижение в 3.5 раза – тяжелой фракции углеводородов в шламе длительного срока хранения, в котором полностью отсутствовали углеводороды C28, C31, C33 в сравнении с шламом текущего накопления, имеющего все углеводороды с C11 по C34. Примененные индексы альфа-разнообразия – Шеннона, Chao1, Faith – показали, что в шламе текущего накопления, несмотря на наличие разнообразных фракций углеводородов, микробное сообщество представлено наиболее многообразными таксонами. Метабаркодирование прокариотных сообществ шламов выявило значительное преобладание домена *Bacteria* над доменом *Archaea*, включающим 3 филума в обоих шламах. В шламе первого года хранения *Archaea* представляют 28.898%, 12 видов, а в шламе длительного хранения 4.207% от всего генетического разнообразия, 9 видов. Домен *Bacteria* в шламе текущего накопления представлен 39 филумами, 76 классами, 123 порядками, 177 семействами. Домен *Bacteria* шлама длительного срока хранения – 27 филумами, 58 классами, 98 порядками, 143 семействами. В шламе текущего накопления преобладает филум *Fusobacteriota*. В шламе, который находится на длительном хранении, доминируют филумы: *Thermotogota*, *Cloacimonadota* и *Verrucomicrobiota*.

Ключевые слова: бактериальное сообщество, метабаркодинг, метагеном, нефтяной шлам, углеводороды, хроматография, 16S рРНК.

Введение. Отходы нефтедобывающей и перерабатывающей промышленности образуются ежегодно и их количество варьирует в зависимости от количества добытой нефти, но в среднем суммарно составляет по разным источникам от 500 тыс. тонн до 3 млн тонн в год. Существующие подходы к утилизации данных отходов разрешают размещать и хранить их в шламовых амбарах (шламонакопителях) без сортировки, классификации и учета [1, 2]. Но эта мера, которая должна была стать первым шагом к деактивации поллютанта, стала единственным дешевым способом избавиться

от растущего количества отходов. Как правило, земляные амбары занимают десятки квадратных километров земель без возможности их дальнейшего использования человеком. На открытых участках таких шламонакопителей происходит естественное взаимодействие отхода с различными физическими природными явлениями. Нет однозначных данных, что шламонакопители, построенные 20–55 лет назад, строились с соблюдением природосберегающих технологий, что за время эксплуатации не повредились стены амбаров, что содержимое не поступает в почвогрунты и подземные воды [3].

МОИСЕЕВА Елена Владимировна, Кубанский государственный университет,
e-mail: moisieieva97@inbox.ru

ХУДОКОРМОВ Александр Александрович – к.б.н., Кубанский государственный университет,
e-mail: sashokas@yandex.ru

КРУГЛОВА Мария Николаевна, Кубанский государственный университет,
e-mail: mariya-kruglova-98@mail.ru

САМКОВ Андрей Александрович – к.б.н., Кубанский государственный университет,
e-mail: andreysamkov@mail.ru

ВОЛЧЕНКО Никита Николаевич – к.б.н., Кубанский государственный университет,
e-mail: volchenko.n@mail.ru

Нефтешламы представляют собой грунты после ликвидации разливов нефтепродуктов, крупнотоннажные промышленные отходы, состав которых зависит от следующих критериев: способа и места добычи, физико-химических свойств нефти, схемы переработки и т.д. Химический и гранулометрический состав шламов значительно различается, например, в среднем по массе 10–56% нефтепродуктов, 30–85% воды, 1.3–46% твердых примесей [4]. Углеводороды (УВ) представлены легкими, тяжелыми и смолисто-асфальтовыми фракциями, а также асфальто-смолопарафиновыми отложениями, являющимися источником токсических, мутагенных и канцерогенных факторов. При этом помимо изначального разнообразия химического состава этого отхода со временем он подвергается медленному воздействию атмосферных осадков, развитию бактериальной микрофлоры, окислительно-восстановительным реакциям, так как идет в анаэробных условиях и угнетается токсичными поллютантами (углеводородами, тяжелыми металлами), [5]. Наличие в нефтешламе микрофлоры позволяет утверждать, что, во-первых, бактерии выработали устойчивость к поллютантам, во-вторых, используют в качестве источника углерода и энергии химические вещества самого шлама (углеводороды или продукты его распада), в-третьих, за счет своего метаболизма способны обезвреживать и переводить в доступную форму органические и неорганические вещества, снижая техногенную нагрузку [6].

Целью настоящей работы являлся анализ генетического разнообразия последовательностей гена 16S рРНК в составе тотальной ДНК методом метабаркодирования из нефтешлама текущего накопления и длительного срока хранения.

Объекты и методы исследований. Объектом исследования служили 2 образца нефтешламов, ранее не подвергавшихся биоремедиации и находящихся в открытых шламонакопителях на территории Краснодарского края: первый со сроком хранения 1 год, второй – около 25 лет. Отбор проб проводили в сентябре 2024 г. с глубины 50 см из пяти точек методом конверта и для анализа использовали усредненную пробу.

Оценку количественного и фракционного состава углеводородов шламов проводили методом газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектором (ГХ-ПИД) на хроматографе «Shimadzu GC 2010» (Shimadzu, Япония) с кварцевой капиллярной колонкой Quadrex (Quadrex, США) (длина 30 м, диаметр 0.25 мм, толщина фазы silphenylene polysiloxane – 0.5 мкм) [7].

Метагеномный анализ нефтешламов проведен в Междисциплинарном центре коллективного пользования Казанского (Приволжского) федерального университета (Казань, Республика Татарстан, Россия). ДНК выделена с использованием набора FastDNA®SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, США) и гомогенизатора FastPrep-24 (MP Biomedicals, США). Библиотеки для секвенирования гипервариабельных областей V3 и V4 гена 16S рРНК подготовлены в соответствии с протоколом подготовки библиотеки для метагеномного секвенирования 16S (Illumina, Сан-Диего, Калифорния, США). Первоначальную ПЦР проводили с использованием ДНК-матрицы и регион-специфичных праймеров, которые совместимы с индексами и адаптерами для секвенирования Illumina (прямой праймер: 5'). После очистки продуктов ПЦР с использованием магнитных шариков AMPure XT проведена повторная ПЦР с использованием праймеров из набора Nextera XT Index (Illumina, Сан-Диего, Калифорния, США) [8]. Очищенные продукты ПЦР визуализировали с помощью гель-электрофореза, далее набором Qubit dsDNA HS определяли количество двухцепочечной ДНК. Общее разнообразие бактерий и архей в шламе оценивали по количеству фрагментов гена 16S рРНК.

Статистическая обработка данных. Статистическую обработку полученных данных проводили в программе Microsoft Excel 2016. Расчет индексов альфа-разнообразия производился с помощью программы QIIME2 и базы данных Silva138, результаты считали статистически значимыми при $p \leq 0.05$ [9].

Результаты исследований и обсуждение. Построенные хроматограммы качественного состава нефтепродуктов (рис. 1) показывают различия в соотношении площадей пиков индивидуальных углеводородов нефтешламов разного срока хранения. Шлам текущего накопления имеет четко выраженные пики УВ до С34. Продемонстрирована тенденция к уменьшению пиков в шламе длительного хранения.

По результатам хроматографического анализа (рис. 2) все УВ разделили на 23 группы в зависимости от количества атомов углерода (С). Обнаружены различия фракционного состава углеводородов в нефтешламе текущего накопления: средняя фракция (С10-С20) составляет 3759 мг/кг, тяжелая фракция (С > 20) – 1587 мг/кг, тогда как в длительно хранившемся шламе средняя фракция меньше в 1.3 раза, тяжелая фракция меньше в 3.5 раза по сравнению со шламом текущего накопления.

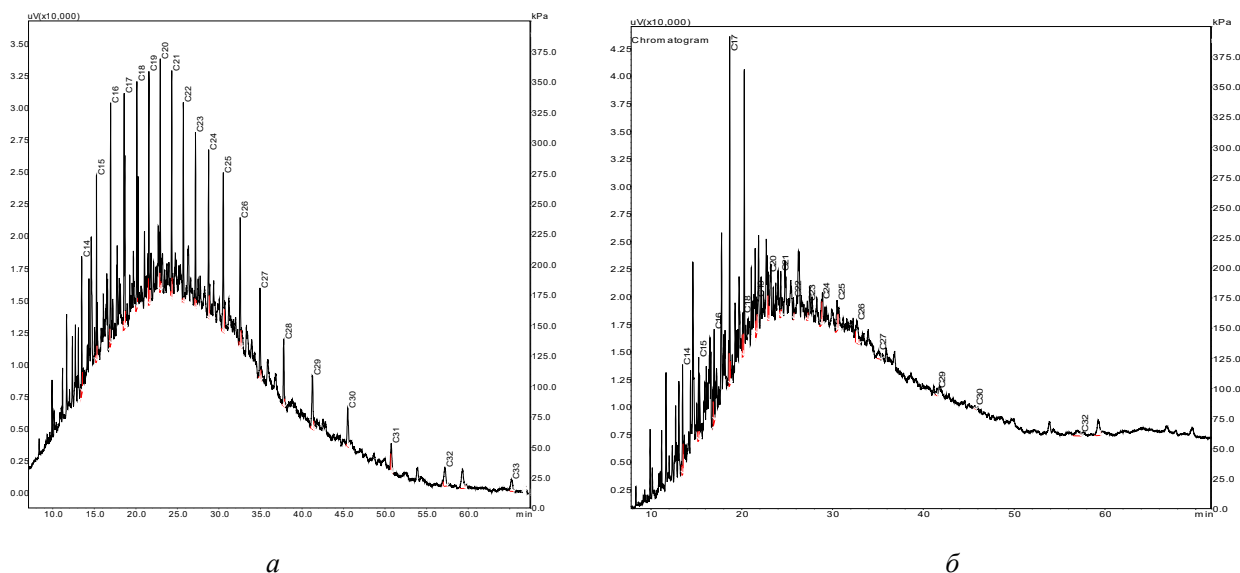


Рис. 1. Хроматограммы шламов: текущего накопления (а), длительного хранения (б): ось x – время в минутах (min) – это время, через которое пик соответствующего вещества появляется на детекторе; ось y справа – интенсивность в $\mu V (\times 10.000)$ – выражена в микровольтах (μV), умноженных на 10 000 ($\times 10.000$) масштабированный сигнал, который пропорционален количеству органического вещества, прошедшего через детектор, по высоте и площади пиков считается количество веществ; ось y слева kPa (килопаскаль) – показывает давление газа-носителя в ходе анализа (контроль стабильности)

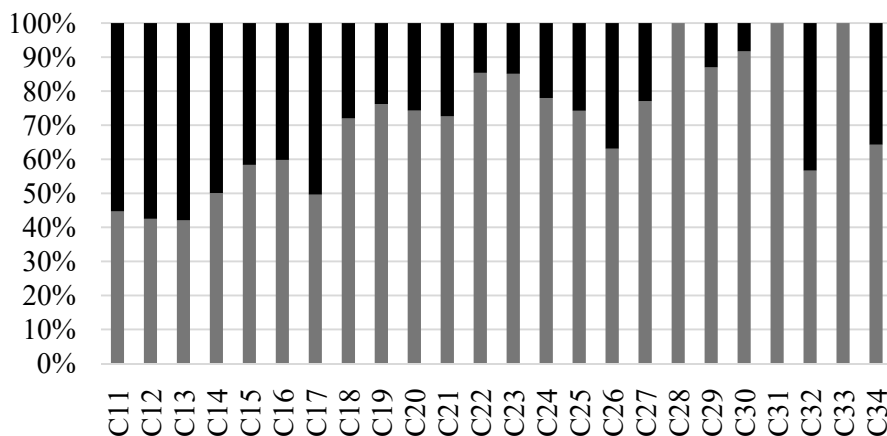


Рис. 2. Фракционный состав углеводородов в шламе длительного хранения и текущего накопления: ось x – углеводороды с количеством (от 11 до 34) атомов углерода (C); ось y – количество углеводородов в процентах (%). Серым цветом показаны колонки для шлама текущего накопления, черным – для шлама длительного хранения

Показано отсутствие групп C28, C31, C33 в шламе длительного хранения (рис. 2), тогда как шлам, находящийся в амбаре год, имеет все УВ от C11 до C34. В нефтешламе длительного срока хранения только УВ средней фракции, а именно C11-C14, C17 превышали значения таких же групп шлама текущего накопления.

Подтверждено, что состав УВ шлама, депонированного в амбарах в течение десятков лет,

отличается от свежего за счет окисления нефти и нефтепродуктов [10]. Свежий шлам разнообразен по качеству и количеству УВ, так как процессы самоочищения только начинают запускаться и одновременно угнетаются по тем же причинам. По результатам проведенных ранее микробиологических посевов основных физиологических групп можно выделить уменьшение количества культивируемых бактерий и

полное отсутствие 8 физиологических групп в шламе текущего накопления [11]. Обратная ситуация наблюдается в шламе, 25 лет находящимся под воздействием внешних факторов и внутренних процессов самоочищения, – снижается количество УВ и их разнообразие.

При анализе генов 16S рРНК прокариотное сообщество шламов представлено доменами *Bacteria* – в шламе текущего накопления 71.1% и длительного хранения – 95.8%, остальные прокариоты относились к домену *Archaea*. Домен *Bacteria* в шламе текущего накопления включает 370 родов и 316 родов в нефтешламе длительного хранения. Домен *Archaea* был минорным: 12 и 9 видов в свежем и старом шламах соответственно.

Рассчитаны индексы альфа-разнообразия прокариотного сообщества – Шеннона, Chao1, Faith. Индекс Шеннона довольно распространенный показатель для оценки разнообразия видов и их распределения. Значение индекса Шеннона выше у шлама текущего накопления (7.432), что указывает на более высокий уровень разнообразия микробиома в отличие от нефтяного шлама длительного хранения – 6.542. Индекс Chao1 предназначен для предположительной оценки реального видового разнообразия сообщества. Данный индекс равен 484.043 в шламе длительного хранения, в шламе текущего накопления в 1.5 раз больше, что характеризует это сообщество как более разнообразное. Для анализа филогенетического разнообразия между видами в сообществе подсчитан индекс Faith, равный 56.143 у шлама текущего накопления, что указывает на охват генетически удаленных групп прокариотов; у шлама длительного хранения индекс Faith на 14.775 меньше. Примененные индексы Шеннона, Chao1, Faith показали, что в шламе текущего накопления микробное сообщество представлено филогенетически разнообразными таксонами, что может быть связано с присутствием в составе шлама большого количества различных фракций углеводов в качестве питательного субстрата.

Была проведена оценка генетического разнообразия нефтешлама длительного срока хранения и текущего накопления (рис. 3).

Домен *Archaea* в обоих шламах был представлен 3 филумами: *Euryarchaeota* с единственным классом *Methanobacteria*, *Halobacterota* с двумя классами *Methanomicrobia* и *Methanosarcinia*, последний филум *Thermoplasmata*, класс

Thermoplasmata. В шламе первого года хранения *Archaea* представляют 28.898% относительного содержания прокариот, разделенных на 8 родов бактерий: *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter*, *Methanosphaera*, *Methanocorpusculum*, *Methanoculleus*, *Methanofollis*, *Methanosaeta*, *Methanosarcina*. В шламе длительного срока хранения *Archaea* составляют 4.207% от общего генетического разнообразия, делятся на 4 рода: *Methanosphaera*, *Methanoculleus*, *Methanosarcina* и *Candidatus Methanomethylophilus*. Все виды первых двух филумов представлены в обоих шламах метаногенными бактериями. Ранее археи находили в осадке после анаэробной переработки нефте-содержащих отходов, но их доля составляла 0.6% [12], что может говорить об интенсификации метаногенеза в шламах. Так как в процессе хранения количество органических веществ снижается, то и численность метаногенов в шламе длительного хранения меньше, чем в текущего накопления.

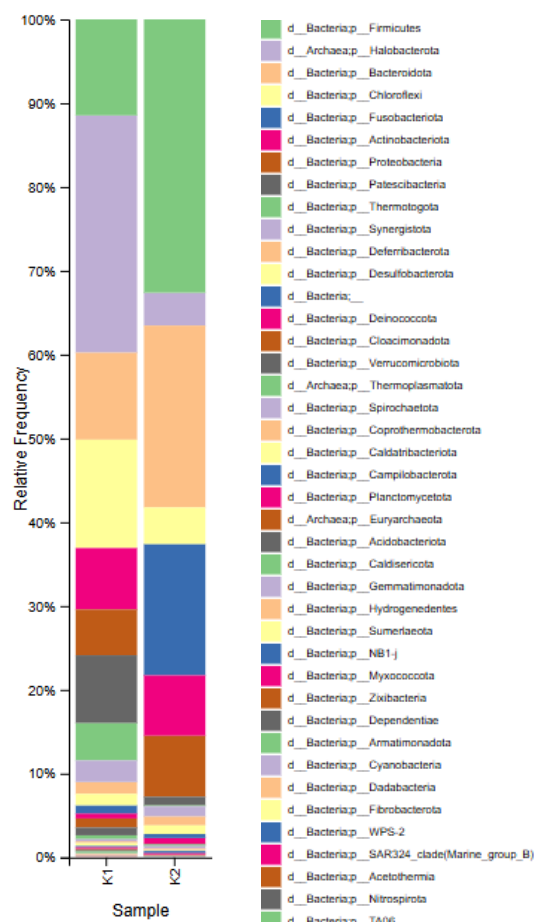


Рис. 3. Филумы прокариот доменов *Archaea* и *Bacteria*. По оси *x* (Sample) находятся 2 образца: K1 – шлам текущего накопления, K2 – шлам длительного хранения. По оси *y* – количество генов филумов в процентах (%)

Домен *Bacteria* (71.102%) в шламе текущего накопления составляют 39 филумов, 76 классов, 123 порядка, 177 семейств. Представители филума *Chloroflexi* включает 12.894% относительной частоты встречаемости, в нем самый многочисленный порядок в исследованном образце *Anaerolineales*, который занимает 10.542% разнообразия сообщества.

Следующий по многочисленности – филум *Firmicutes* (11.465%), где преобладают классы *Clostridia* и *Bacilli* 4.967 и 1.284% соответственно, при этом количество родов этих классов составляет 13 и 25 соответственно. Следующий по выраженности филум *Bacteroidota* (10.387%), к которому отнесены представители порядка *Bacteroidales*, входящие в 9.567% относительного разнообразия всего сообщества. Малочисленными, составляющими 1–5% от общего числа генетического разнообразия, являются 8 филумов: *Patescibacteria* (8.077%), *Actinobacteriota* (7.339%), *Proteobacteria* (5.462%), *Thermotogota* (4.477%), *Synergistota* (2.568%), *Deferribacterota* (1.423%), *Desulfobacterota* (1.362%), *Cloacimonadota* (1.362%). Оставшиеся 20 филумов вносят 3.48% в разнообразие генов шлама текущего накопления.

Домен *Bacteria* (95.793%) шлама длительного срока хранения имеет в своем составе 27 филумов, 58 классов, 98 порядков, 143 семейств. По относительной частоте встречаемости генов филум *Firmicutes* занимает 32.617% от всего генетического разнообразия шлама и включает 91 род бактерий. В этом филуме основную часть занимают классы *Bacilli* – 7.070% и *Clostridia* – 24.323%. Представители филума *Bacteroidota* составляют 21.707% относительного разнообразия, где 21.648% занимает класс *Bacteroidia*. Следующий по выраженности филум *Fusobacteriota* с единственным представителем семейства *Leptotrichiaceae*, занимающим 15.685%. Филумы *Proteobacteria* и *Actinobacteriota* составляют по 7.265 и 7.212%. Малочисленными, составляющими 1–5% от общего числа генетического разнообразия, являются 5 филумов: *Chloroflexi* (4.355%), *Synergistota* (1.171%), *Deferribacterota* (1.083%), *Desulfobacterota* (4.355%), *Patescibacteria* (1.012%). Оставшиеся 15 филумов вносят 2.142% в разнообразие генов шлама длительного срока хранения.

К группе активных нефтедеструкторов относят такие филумы, как *Proteobacteria* и

Actinobacteria. Например, в результате биоремедиации почвы, загрязненной нефтью, в опытных образцах после 12 недель биоремедиации количество представителей классов *Gamma**proteobacteria* и *Alpha**proteobacteria* составляло 53–73% и 22–39% соответственно, филум *Actinobacteria* после 17-летней рекультивации насчитывал 0.4–2.1% от общего количества бактерий в сообществе [12–14]. Другое исследование загрязненной нефтепродуктами почвы в руднике показывает доминирование культивируемых бактерий родов: *Pseudomonas*, *Flavobacterium* и *Rhodococcus* через 30 дней модельного эксперимента [15]. В проанализированных нефтяных шламах текущего и длительного хранения численность протеобактерий не столь значительна, составляет 5.461 и 7.265% соответственно, актинобактерий в обоих шламах не более 7%. Роды *Flavobacterium* и *Rhodococcus* отсутствуют, род *Pseudomonas* включает от 0.3 до 0.6% прокариот. Предположительно в шламах роль нефтедеструкторов выполняют бактерии указанных филумов, а также некоторые другие, например, класс *Bacilli*. Полученные данные показывают, что количество генов определенного таксона лишь косвенно указывает на его роль в микробном сообществе.

Заключение. Проведенная работа позволила выявить взаимосвязь длительности хранения и разнообразия прокариотного сообщества. В результате длительного хранения, воздействия внешних и внутренних (биотических) факторов среды в нефтяном шламе выявлено уменьшение количества средней и тяжелой фракции углеводородов, тогда как в шламе, хранящемся в накопителе год, насчитывается в 4.8 раза больше углеводородов. В изученных шламах выявлены доминирующие филумы, характерные только для определенного срока хранения: шлам текущего срока хранения – филум *Fusobacteriota*, шлам длительного срока – филумы *Thermotogota*, *Cloacimonadota*, *Verrucomicrobiota*. Рассчитанные индексы альфа-разнообразия прокариотного сообщества (Шеннона, Chao1, Faith) показали, что в шламе текущего накопления микробное сообщество представлено наиболее разнообразными таксонами. Результаты настоящего исследования могут быть полезны для разработки биоремедиационных мероприятий при обезвреживании шламов.

Литература

1. Ахметов А.Ф., Гайсина А.Р., Мустафин И.А. Методы утилизации нефтешламов различного происхождения // Нефтегазовое дело. 2011. Т. 9. № 3. С. 98–101.
2. Крапивский Е.И. Нефтешламы: уничтожение, утилизация, дезактивация: монография. М.: Вологда: Инфра Инженерия. 2021. 432 с.
3. Попова Г.Г., Каськов А.С., Моисеева Я.Ю., Яценко М.А. Разработка способа экологической реабилитации шламонакопителей нефтесодержащих отходов // Горный информационно-аналитический бюллетень. 2012. № 14–19. С. 3–19/
4. Булатов В.И., Игенбаева Н.О., Нанишвили О.А. Отходы нефтегазового комплекса как технологический индикатор геоэкологического состояния регионов России // Бюллетень науки и практики. 2021. № 8. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/othody-neftegazovogo-kompleksa-kak-tehnologicheskii-indikator-geoekologicheskogo-sostoyaniya-regionov-rossii> (дата обращения: 24.03.2026)
5. Коршунова Т.Ю., Логинов О.Н. Нефтешламы: состояние проблемы в Российской Федерации и методы снижения их отрицательного воздействия на окружающую среду // Экобиотех. 2019. Т. 2. № 1. С. 75–85. DOI: 10.31163/2618-964X-2019-2-1-75-85
6. Григорьева Т.В., Лайков А.В., Ризванов А.А., Ильинская О.Н., Наумова Р.П. Состав микробного сообщества нефтешлама на основе анализа гена 16S рРНК // Микробиология. 2013. Т. 82. № 5. С. 635–639. DOI: 10.7868/S0026365613050042.
7. Pavlova M.A., Ivanova C.R. Determination of petroleum hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbons in sludge from wastewater treatment basins // Journal of Environmental Monitoring. 2003. V. 5. № 2. P. 319–323. DOI: 10.1039/b208157c.
8. 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 // Nature Methods. 2016. V. 13. № 7. P. 581–583. DOI: 10.1038/nmeth.3869
9. Bolyen E., Rideout J.R., Dillon M.R., Bokulich N.A., Abnet C.C., et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2 // Nature Biotechnology. 2019. V. 37. № 8. P. 852–857. DOI: 10.1038/s41587-019-0209-9
10. Журавлева В.В. Использование рекультивационных смесей для утилизации отходов нефтедобычи // Бюллетень науки и практики. 2017. № 6. С. 130–139.
11. Моисеева Е.В., Худокормов А.А., Самков А.А., Волченко Н.Н., Круглова М.Н. Биоразнообразие культивируемой микрофлоры нефтешлама временного накопления // 5-й Российский Микробиологический конгресс. Волгоград. 2025. С 67–68.
12. Назина Т.Н., Соколова Д.Ш., Бабич Т.Л., Семенова Е.М., Борзенков И.А., Биджиева С.Х., Меркель А.Ю., Хисаметдинов М.Р., Турова Т.П. Фи-

логенетическое разнообразие микроорганизмов осадка биогазового реактора, перерабатывающего нефтесодержащие и муниципальные отходы // Микробиология. 2018. Т. 87. № 3. С. 314–324. DOI: 10.7868/S0026365618030096

13. Koshlaf E., Shahsavari E., Aburto-Medina A., Taha M., Haleyr N., Makadia T.H., Morrison P.D., Ball A.S. Bioremediation potential of diesel-contaminated Libyan soil // Ecotoxicology and environmental safety. 2016. V. 133. P. 297–305. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2016.07.027
14. Мелехина Е.Н., Канев В.А., Маркарова М.Ю., Надежкин С.М., Новаковский А.Б., Таскаева А.А., Тарабукин Д.В., Велегжанинов И.О., Расова Е.Е. Оценка состояния загрязненных нефтью экосистем Европейской Субарктики: мультидисциплинарный подход // Теоретическая и прикладная экология. 2020. № 2. С. 123–129. DOI: 10.25750/1995-4301-2020-2-123-129
15. Totubaeva N., Tokpaeva Z., Uulu A. A., Kojobaev K. Microbiological diversity and biotechnological potential of the soil ecosystem of a high-mountainous landfill // Polish Journal of Environmental Studies. 2019. V. 28. № 6. P. 4429–4435. DOI: 10.15244/pjoes/99904

References

1. Ahmetov A.F., Gajisina A.R., Mustafin I.A. Utilization methods of oil sludge of different origin // Petroleum engineering. 2011. T. 9. № 3. P. 98–101.
2. Krapivskij E.I. Oil sludge: destruction, recycling, decontamination. Moscow: Vologda: Infra Engineering, 2021. 432 p.
3. Popova G.G., Kas'kov A.S., Moiseeva Ya.Yu., Yatsenko M.A. The development method of ecological rehabilitation of sludge collector oily waste // Mining informational and analytical bulletin. 2012. № 14-19. P. 3–19/
4. Bulatov V.I., Igenbaeva N.O., Nanishvili O.A. Oil and gas complex waste products as technological indicator of geoecological condition of Russia regions // Bulletin of science and practice. 2021. № 8. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/othody-neftegazovogo-kompleksa-kak-tehnologicheskii-indikator-geoekologicheskogo-sostoyaniya-regionov-rossii>
5. Korshunova T.Yu., Loginov O.N. Oil sludge: conditions of the problem in the russian federation and methods to reduce their negative influence on the environment // Ecobiotech. 2019. T. 2. № 1. P. 75–85. DOI: 10.31163/2618-964X-2019-2-1-75-85
6. Grigoryeva T.V., Laikov A.V., Rizvanov A.A., Ilinskaya O.N., Naumova R.P. Composition of the oil-slime microbial community as determined by analysis of the 16s rRNA gene // Microbiology. 2013. T. 82. № 5. P. 635–639. DOI: 10.7868/S0026365613050042
7. Pavlova M.A., Ivanova S.R. Determination of petroleum hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbons in sludge from wastewater treatment basins //

Journal of Environmental Monitoring. 2003. V. 5. № 2. P. 319–323. DOI: 10.1039/b208157c.

8. 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 // *Nature Methods*. 2016. V. 13. № 7. P. 581–583. DOI: 10.1038/nmeth.3869

9. Bolyen E., Rideout J.R., Dillon M.R., Bokulich N.A., Abnet C.C., et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2 // *Nature Biotechnology*. 2019. V. 37. № 8. P. 852–857. DOI: 10.1038/s41587-019-0209-9

10. Zhuravleva V.V. Use of reconstructive mixtures for the disposal of waste oil production // *Bulletin of science and practice*. 2017. № 6. P. 130–139/

11. Moiseeva E.V., Khudokormov A.A., Samkov A.A., Volchenko N.N., Kruglova M.N. Biodiversity of cultivated microflora of temporary accumulation oil sludge // 5th Russian microbiological congress. Volgograd. 2025. P. 67–68.

12. Nazina T.N., Sokolova D.S., Babich T.L., Semenova E.M., Borzenkov I.A., Bidzhieva S.K., Merkel A.Y., Tourova T.P., Khisametdinov M.R. Phyloge-

netic diversity of microorganisms from the sludge of a biogas reactor processing oil-containing and municipal waste // *Microbiology*. 2018. T. 87. № 3. P. 314–324. DOI: 10.7868/S0026365618030096

13. Koshlaf E., Shahsavari E., Aburto-Medina A., Taha M., Haleyr N., Makadia T.H., Morrison P.D., Ball A.S. Bioremediation potential of diesel-contaminated Libyan soil // *Ecotoxicology and environmental safety*. 2016. V. 133. P. 297–305. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2016.07.027

14. Melechina E.N., Kanev V.A., Markarova M.Ju., Nadezhkin S.M., Novakovskij A.B., Taskaeva A.A., Tarabukin D.V., Velegzhaninov I.O., Rasova E.E. Assessment of the state of oil-polluted ecosystems of European Subarctic: a multidisciplinary approach // *Theoretical and applied ecology*. 2020. № 2. P. 123–129. DOI: 10.25750/1995-4301-2020-2-123-129

15. Totubaeva N., Tokpaeva Z., Uulu A. A., Kojobaev K. Microbiological diversity and biotechnological potential of the soil ecosystem of a high-mountainous landfill // *Polish Journal of Environmental Studies*. 2019. V. 28. № 6. P. 4429–4435. DOI: 10.15244/pjoes/99904

METABARCODING OF ABORIGINAL PROKARYOTIC COMMUNITIES OF OIL SLUDGE OF DIFFERENT STORAGE PERIODS IN THE KRASNODAR REGION

© E.V. Moiseeva, A.A. Khudokormov, M.N. Kruglova, A.A. Samkov, N.N. Volchenko

Kuban State University,
149, ulitsa Stavropolskaya, 350040, Krasnodar, Russian Federation

The genetic diversity of the prokaryotic community and the hydrocarbon composition of long-term storage (approximately 25 years) and current accumulation (1 year) oil sludge in the Krasnodar Territory were studied. Gas chromatography with a flame ionization detector (GC-FID) on a Shimadzu GC 2010 chromatograph revealed a 1.3-fold decrease in the amount of the medium fraction and a 3.5-fold decrease in the heavy hydrocarbon fraction in the long-term storage sludge, which was completely free of C28, C31, C33 hydrocarbons, compared to the current accumulation sludge, which contains all hydrocarbons from C11 to C34. The applied alpha diversity indices – Shannon, Chao1, Faith – showed that in the current accumulation sludge, despite the presence of various hydrocarbon fractions, the microbial community is represented by the most diverse taxa. Metabarcoding of prokaryotic communities in the sludges revealed a significant predominance of the *Bacteria* domain over the *Archaea* domain, comprising three phyla in both sludges. In the first-year storage sludge, *Archaea* represent 28.898% (12 species) of the total genetic diversity, while in the long-term storage sludge, it represents 4.207% (9 species). The *Bacteria* domain in the current accumulation sludge is represented by 39 phyla, 76 classes, 123 orders, and 177 families. The *Bacteria* domain in the long-term storage sludge comprises 27 phyla, 58 classes, 98 orders, and 143 families. In recently stored sludge, the phylum *Fusobacteriota* predominates. In long-term stored sludge, the phyla *Thermotogota*, *Cloacimonadota*, and *Verrucomicrobiota* predominate.

Keywords: bacterial community, metabarcoding, metagenome, oil sludge, hydrocarbons, chromatography, 16S rRNA.