

УДК 631.421.2

doi: 10.26907/2542-064X.2020.4.573-591

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ ГРИБНОГО СООБЩЕСТВА ПОЧВ ПРИ ВЫСОКОМ СОДЕРЖАНИИ НЕФТИ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛЬНОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

Л.Р. Бикташева, С.Ю. Селивановская, П.Ю. Галицкая

Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия

Аннотация

Изучено поведение грибных сообществ трех образцов почв (D, S и C), различающихся по содержанию органического углерода (0.8%, 1.9% и 4.5%) и загрязненных нефтью в концентрации 120 г/кг почвы, в течение 120-суточного лабораторного эксперимента. Внесение нефти в почвы приводило к снижению численности грибов в среднем в 2 раза с последующим восстановлением их количества до уровня исходной почвы в образцах S и C, но не в образце D, где оно оставалось ниже исходной до конца эксперимента. Методом высокопроизводительного секвенирования на платформе Illumina MiSeq проведен анализ структуры сообществ в динамике, а затем методом NMDS оценена схожесть сообществ, формирующихся на этапах их восстановления.

Установлено, что наименее устойчивыми к внесению нефти оказались сообщества почв с большим содержанием органического вещества (изменение сообществ зафиксировано на 3-и сутки), тогда как сообщество почв с низким содержанием органического вещества (образец D) поменяло структуру лишь на 30-е сутки от начала воздействия. Нефть оказала селекционирующее действие, приведя к выраженному доминированию представителей ряда таксонов на 120-е сутки (рода *Fusarium* (34%) и семейства Clavicipitaceae (20%) в образце D, рода *Fusarium* (82%) в образце S, родов *Fusarium* (56%) и *Mortierella* (21%) в образце C), что свидетельствует о неустойчивом состоянии сообществ. Оценка схожести сообществ, формирующихся на этапах их восстановления, методом NMDS подтвердила, что начиная с 30-х суток сообщества всех образцов достоверно отличались от исходных, причем их различия увеличивались со временем.

Ключевые слова: нефтезагрязненные почвы, грибное сообщество, секвенирование

Введение

Загрязнение почвы нефтью происходит при авариях на нефтепроводах, в товарных парках и т. д. Результатом поступления нефти в почву является изменение ее физических, химических и биологических свойств, что определяет нефтяное загрязнение как глобальную проблему [1–6].

В природных условиях снижение концентрации нефти в почве в основном связано с ее биодegradацией почвенными организмами – бактериями и грибами. В настоящее время широко представлены работы, посвященные поиску бактерий, обладающих способностью разлагать различные углеводороды, механизмам их деструкции, анализу структуры бактериальных сообществ [7–10]. В то же время значительно меньше внимания уделено такой составляющей почвенного

сообщества, как грибы. Известно, что разлагать углеводороды, в том числе полиароматические, могут две группы грибов – лигнолитические и нелигнолитические, каждая из которых обладает ферментами, являющимися неспецифическими [11, 12]. Грибы первой группы имеют внеклеточные лигнин-разлагающие ферменты, такие как лигнин- и марганец-пероксидаза, лакказы. Вторая группа грибов располагает внутриклеточными ферментами, такими как цитохром P450-зависимая монооксигеназа. В последнем случае путь разложения углеводородов будет схож с бактериальным. Примером грибов, реализующих процесс трансформации полиароматических углеводородов за счет окисления их цитохромом P450-зависимой монооксигеназой, являются представители родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cunninghamella*, *Trametes* и *Caldariomyces* [13–16]. К числу грибов, осуществляющих деградацию полиароматических углеводородов с помощью лигнин-разлагающих ферментов, относят грибы белой гнили, такие как *Phanerochaete*, *Trametes*, *Bjerkandera* и *Pleurotus* [17–19]. Кроме того отмечается, что некоторые грибы могут иметь обе группы ферментов [20–23].

В литературе представлены данные о влиянии нефтяного загрязнения почв на грибное сообщество [24–26]. Показано, что загрязнение приводит к снижению разнообразия и росту обилия отдельных таксонов. Так, при 10%-ном нефтяном загрязнении почв среди грибов доминируют организмы, отнесенные к родам *Aspergillus*, *Penicillium* и *Mucor* [27]. К. Лланос, А. Кёллер (1976) обнаружили, что внесение нефти в объеме 10% способствовало росту обилия представителей родов *Graphium* и *Paecilomyces* [28]. С использованием метода культивирования изолятов показано, что грибы родов *Graphium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Acremonium*, *Mortierella*, *Giocladium*, *Trichoderma* и *Sphaeropsidales* способны утилизировать углеводороды сырой нефти. Изучена возможность использования грибов в качестве интродуцентов при биоремедиации нефтезагрязненных отходов и почв [29, 30]. В то же время необходимо отметить, что в основном исследования сосредоточены на разнообразии культивируемых грибов. Данные об исследовании грибных сообществ почв с высокой степенью загрязнения нефтепродуктами методами метагеномного анализа ограничены.

Исходя из этого, целью настоящей работы явился анализ изменения структуры грибного сообщества почв при высоком содержании нефти в условиях модельного эксперимента.

1. Материалы и методы

Дизайн эксперимента. Для лабораторного моделирования были отобраны три почвенных образца, различающиеся по содержанию органического вещества. Образец D: $C_{\text{орг}},\%$ – 0.8, pH 5.5, образец S: $C_{\text{орг}},\%$ – 1.9, pH 6.6, образец C: $C_{\text{орг}},\%$ – 4.5, pH 7.3. По гранулометрическому составу все образцы являлись пылеватыми суглинками. Образцы отбирали согласно ГОСТ 17.4.4.02-2017 [31]. Каждый из почвенных образцов помещали в 6 инкубационных сосудов. В половину из них вносили нефть в количестве 120 г/кг. Образцы нефти были отобраны на Марийском нефтеперерабатывающем заводе (Марий Эл, Россия). Остальные почвенные образцы оставляли в качестве контрольных. Инкубирование образцов осуществляли при комнатной температуре и перемешивании в течение 120 сут.

В процессе инкубирования отбирали пробы и определяли содержание нефтепродуктов, численность грибов и структуру грибного сообщества. Содержание нефтепродуктов определяли на 3-и и 120-е сутки. Количество грибов и структуру сообщества определяли на 3-и, 30-е, 60-е и 120-е сутки эксперимента.

Физико-химические анализы. Содержание нефтепродуктов определяли гравиметрическим методом [32]. Содержание отдельных фракций нефти (сумму алифатических и ароматических углеводородов, смол и асфальтенов) оценивали адсорбционно-хроматографическим методом Маркуссона – Саханова [33].

Определение количества генов методом количественной ПЦР. Общая геномная ДНК была экстрагирована с помощью коммерческого набора FastDNA®SPIN Kit for Soil (Bio101, Qiogene, Германия). Образцы нуклеиновых кислот анализировали немедленно или хранили при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Численность грибов определяли с помощью количественной ПЦР с использованием общегрибных праймеров FQf-FQr [34]. Реакционная смесь включала в себя 0.1 U/мкл полимеразы *SynTaq*, 1-кратный буфер с красителем SYBR Green, 2.5 mM MgCl_2 , по 200 мкМ каждого dNTP, 0.2 мкМ каждого праймера и 1 мкл ДНК. Амплификация осуществлялась на приборе CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, Германия) и представляла следующий режим: 15 мин при $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ и 39 циклов, включающих 30 с при $95\text{ }^{\circ}\text{C}$, 30 с при $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ и 30 с при $72\text{ }^{\circ}\text{C}$. Стандартная кривая для оценки общего числа грибов была построена на основе зависимости порогового цикла (C_t) от известных количеств копий генов штамма *Penicillium chrysogenum*. Концентрация ДНК была измерена с помощью Qubit 3.0 Fluorometer (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, США). Все анализы были выполнены в трех повторностях при эффективности 94% и значениях R^2 больше 0.99.

Анализ структуры микробного сообщества. Секвенирование грибного сообщества проводили на базе платформы Illumina MiSeq (Illumina, США). Подготовка геномной библиотеки была осуществлена согласно модифицированному протоколу Metagenomic Sequencing Library Preparation Protocol (Illumina MiSeq). Амплификацию участка ITS2 проводили с помощью термоциклера DNA Engine Tetrad® 2 cycler (BioRad, Германия) с использованием системы праймеров ITS86F-ITS4. Амплификация проводилась по следующему режиму: $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 3 мин, 27 циклов $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ (30 с), $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ (30 с) и $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ (30 с), а также финальная элонгация при $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ (3 мин). Ампликоны были очищены с помощью Agencourt AMPure XP purification kit (Beckman Coulter, США). Второй раунд был проведен с использованием тех же параметров амплификации. Концентрация ампликонов была измерена на приборе Qubit 3.0 Fluorometer (Invitrogen, США) с использованием Quant-iT™ dsDNA High-Sensitivity Assay Kit (Thermo Fisher, США). Контроль качества полученных ампликонов был проведен на приборе Labchip GX Touch 24 (PerkinElmer). Далее было проведено секвенирование на приборе MiSeq (Illumina, США) согласно инструкции.

Контроль качества прочтения полученных ITS2 последовательностей был проведен с помощью инструмента cutadapt v2.7, парноконцевые прочтения были объединены с помощью инструмента FLASH v1.2, дубликаты последовательно-

стей и химеры были удалены в соответствии с протоколами RDPTools. Таксономическая классификация проводилась в соответствии с базой данных ITS2 при помощи инструмента RDPTools v2.11 с порогом сходства 97%.

Статистическая обработка результатов. Все исследования проводили не менее чем в трех повторностях. Полученные данные были обработаны с использованием программы Origin 8.5 (OriginLab, Northampton, USA). Для оценки достоверности различий был использован критерий Фишера при $\alpha = 0.05$. Бета-разнообразие было рассчитано с помощью программного обеспечения R. Для визуализации данных методом многомерного шкалирования были построены NMDS-графики, в основу которых были положены индексы схожести, рассчитанные с помощью коэффициента Брея – Кертиса [35].

2. Результаты и их обсуждение

Изменение содержания нефти, а также изменение соотношения ее фракций показаны на рис. 1. Выявлено, что в течение 120 сут инкубирования лишь в образце S произошло снижение общего содержания нефти (на 10%), в двух остальных случаях достоверные изменения ее содержания отсутствуют. Установлено незначительное снижение фракции алифатических и ароматических углеводородов (на 27%) в образце D при увеличении фракции смол с 35% до 46%. В образцах S и C изменение соотношений фракций было недостоверным.

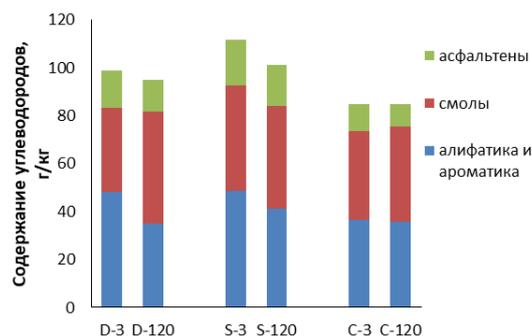


Рис. 1. Содержание углеводородов

Оценка влияния нефтяного загрязнения на численность грибов в почве была проведена методом ПЦР в реальном времени. Данные представлены на рис. 2. Установлено, что численность грибов в исходных почвенных образцах составила $5.1 \cdot 10^4$, $1.5 \cdot 10^5$ и $2.3 \cdot 10^5$ копий генов/г в вариантах C0, S0 и D0 соответственно, что сопоставимо с данными литературы [36, 37]. Внесение в почвы нефти сопровождалось снижением численности грибов во всех образцах в среднем в 2 раза. В образцах S и C к 30-м суткам инкубирования численность грибов восстанавливалась и даже становилась выше значений в контрольных образцах в среднем в 1.5 раза. К 120-м суткам инкубирования численность грибов вновь снижалась, при этом оставаясь выше исходных значений. Иную картину наблюдали для образца D. В отличие от образцов S и C, численность грибов,

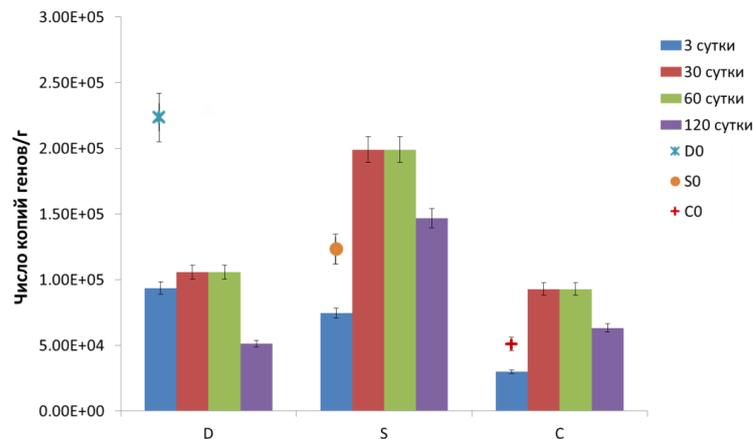


Рис. 2. Численность грибов в образцах почв D, S и C в динамике эксперимента. На рисунке представлены средние значения и стандартная ошибка (SE)

снизившись после внесения нефти, не восстанавливается до исходного уровня в течение всего периода инкубирования образца. Таким образом, установлено, что на начальном этапе нефть при ее высоком содержании приводит к достоверному снижению численности грибов. В то же время в литературе представлены и иные данные, демонстрирующие отсутствие эффекта нефти на численность грибов, правда, необходимо отметить существенно более низкий уровень загрязнения в этих исследованиях [38].

Для оценки влияния нефти на почвенные сообщества помимо изменения численности грибов необходимо анализировать и изменение состава и структуры сообществ. Для этого в динамике эксперимента определяли изменение метагенома почв методом высокопроизводительного секвенирования на платформе Illumina MiSeq. После секвенирования полученные данные были обработаны, некачественные последовательности были удалены. Для анализа были взяты 505 грибных ОТЕ, в том числе 373 из этих ОТЕ хотя бы единожды были обнаружены в одном из образцов незагрязненных почв, 45 ОТЕ – только в образцах нефтезагрязненных почв.

Анализ грибного сообщества проводили на уровне типов и на уровне доминантных ОТЕ. При анализе сообществ исходных почвенных образцов установлено, что сообщества двух почв D и C были достаточно схожи (рис. 3). Так, в обоих вариантах (D0 и C0) доминировали грибы типа Ascomycota, составляющие 45% и 49%, далее по относительному обилию следовали представители типа Basidiomycota – 33% и 44%, в меньшем количестве присутствовали грибы типа Mucoromycota – 14% и 6% соответственно. ОТЕ, обнаруженные в образце S0, относились к тем же типам, однако их соотношение составило 70%, 6% и 16% для Ascomycota, Basidiomycota и Mucoromycota соответственно. В целом необходимо отметить, что доминирование указанных таксонов является традиционным [2, 39, 40].

Внесение в почвы нефти привело к изменению в структуре сообществ, причем если в варианте D эти изменения отмечали только через месяц инкубирования, то в вариантах S и C изменения наблюдали уже на третий день. В образце D

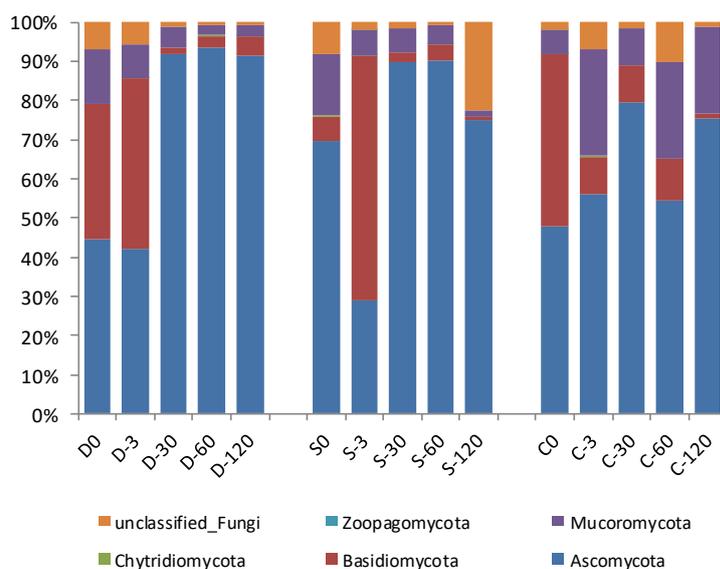


Рис. 3. Динамика структуры грибных сообществ на уровне типов

начиная с 30-х суток в составе сообщества увеличили представительность грибы типа Ascomycota, чье относительное обилие составило 92–94%, тогда как обилие представителей остальных таксонов существенно снизилось. В образце S на 3-и сутки инкубирования изменилась структура доминирования в пользу представителей класса Basidiomycota, однако начиная с 60-х суток представители типа Ascomycota вернули доминирующее положение, составляя 75–90% от общего обилия грибных организмов. В образце C на 3-и сутки снизилось обилие представителей типа Basidiomycota с 44% в исходной почве до 10% в нефтезагрязненной, а к 120-м суткам их обилие сократилось до 1%. Отличительной чертой сообщества образца C является увеличение к концу инкубирования обилия грибов типа Mucoromycota.

Анализ структуры грибных сообществ, произведенный на уровне высшего таксона, показал, что, несмотря на одинаковый уровень загрязнения нефтью, сообщества всех трех почв имели различные тренды в развитии. Поэтому на следующем этапе была рассмотрена структура сообществ на уровне ОТЕ, относительное обилие которых составляло более 5% (рис. 4).

Установлено, что в незагрязненном образце D на 3-и сутки доминировали представители класса Tremellomycetes (18%) и рода *Sagenomella* (13%). Отмеченные таксоны характерны для почвенного сообщества. Так, класс Tremellomycetes представлен большим числом организмов, многие из которых обнаружены в почвах, например грибы родов *Naganishia*, *Solicoccozyma*, *Tausonia*, *Kwoniella*, *Trichosporon* [41]. Представители рода *Sagenomella* были отмечены в нижних слоях лесной почвы [42]. В исходном образце S доминировали представители родов *Leohumicola* (21%) и *Mortierella* (13%), которые также являются типичными почвенными грибами. Грибы рода *Leohumicola* известны как эрикоидные микоризные грибы, а грибы рода *Mortierella* – как типичные обитатели лесных почв

[40, 42, 43]. Доминантами сообществ образца С явились представители семейства Russulaceae (13%), рода *Venturia* (11%) и класса Tremellomycetes (10%). И эти представители относятся к типичным почвенным таксонам, например, семейство Russulaceae в основном представлено эктомикоризными симбионтами растений, представители рода *Venturia* являются почвенными сапротрофами [44–46]. Анализ доминирующих представителей исходных сообществ почв показывает, что даже в отсутствие нефтяного загрязнения состав грибных сообществ различен, что связано, скорее всего, с различием агрохимических характеристик почв.

Внесение нефти вызвало различные эффекты в отношении грибных сообществ почвенных образцов. Наиболее устойчивым сообществом оказалось сообщество образца D, содержащего минимальное количество органического вещества. Так, в пробах, отобранных на 3-и сутки, так же как и в исходном образце, доминировали представители рода *Sagenomella* (11%) и класса Tremellomycetes (11%) (рис. 4, а). Изменения в структуре были отмечены лишь к концу первого месяца: на доминирующие позиции выходили представители рода *Fusarium* (52–54%), однако к 120-м суткам они снижали свое обилие до 34%, а в качестве субдоминантов появились представители семейства Clavicipitaceae (20%).

Менее устойчивыми к внесению нефти оказались сообщества образцов S и С. Уже на 3-и сутки внесение нефти привело к появлению в сообществе образца S нового доминанта – представителей семейства Russulaceae (31%) (рис. 4, б). Однако через 30 сут эксперимента они снизили свое обилие практически до нуля, а доминирующие позиции заняли представители рода *Fusarium*, обилие которых возрастало с 42% на 30-е сутки инкубирования до 82% на 120-е сутки.

Наибольшую изменчивость при внесении в почву нефти продемонстрировало сообщество образца С (рис. 4, в). Так, в сообществе образца, отобранном на 3-и сутки, доминировали грибы *Mortierella elongata* (26%), к концу первого месяца на лидирующие позиции выходили представители таких таксонов, как вид *Metarhizium carneum* (11%), порядок Нурocreales (10%), род *Sagenomella* (9%). На 60-е сутки доминировали представители родов *Fusarium* (12%) и *Mortierella* (16%). К концу эксперимента представители родов *Fusarium* и *Mortierella* сохранили доминирование, возрастая до 56% и 21% соответственно.

Таким образом, единственной закономерностью для трех почвенных образцов при анализе структуры сообществ на уровне доминирующих ОТЕ явилось увеличение обилия представителей рода *Fusarium*. Скорее всего, это связано, во-первых, с наличием у них лигнин пероксидазной системы, позволяющей трансформировать различные углеводороды, во-вторых, с тем, что представители рода *Fusarium* являются одними из самых распространенных почвенных грибов [11, 36, 42, 47–52]. Аналогичным образом доминирование остальных установленных таксонов связано с наличием у них ферментных систем, обеспечивающих деградацию углеводородов. Так, лигнин-окисляющие ферменты обнаружены у представителей семейств Clavicipitaceae, Russulaceae и рода *Sagenomella* [42, 53–56]. Ферментные системы – цитохром P450-зависимая монооксигеназа – присутствуют у грибов рода *Mortierella*, представителей класса Tremellomycetes [2, 57–60].

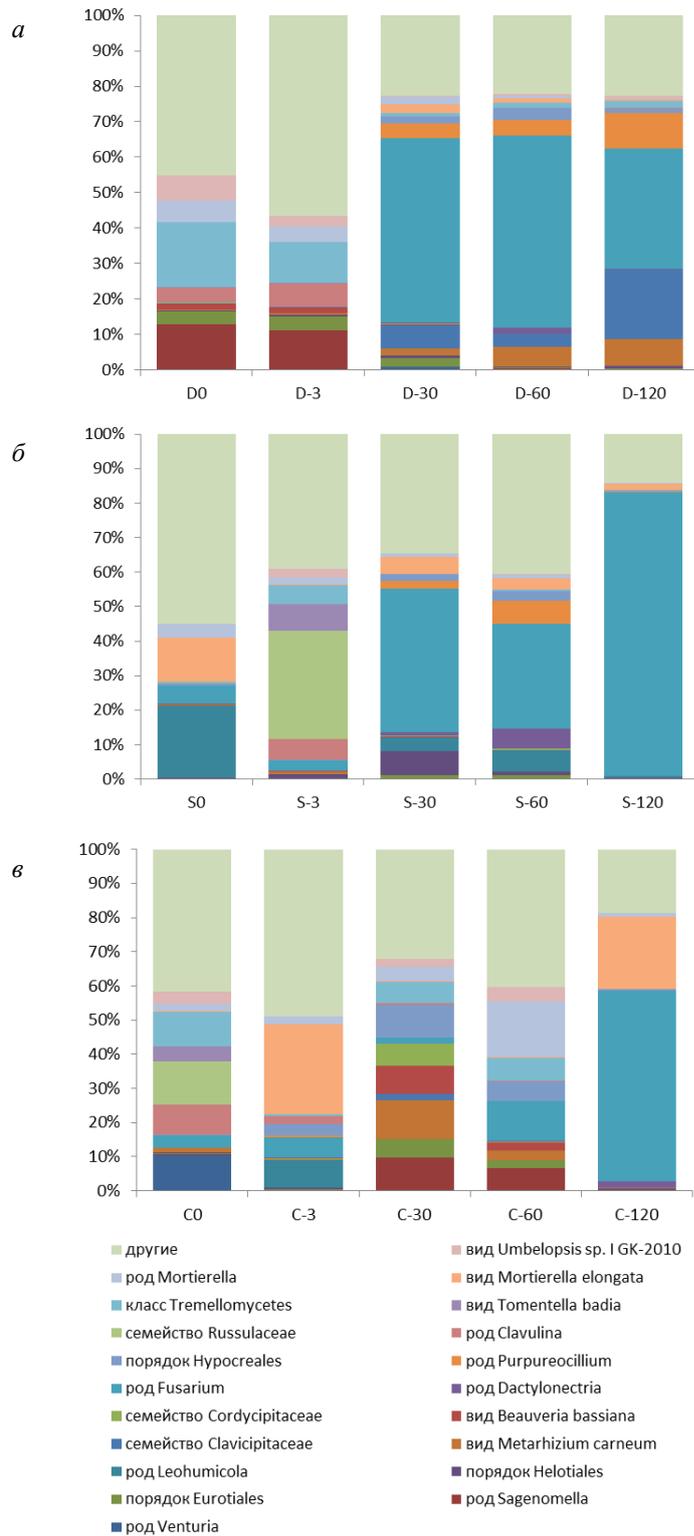


Рис. 4. Динамика структуры грибных сообществ на уровне ОТЕ: *а* – образец D, *б* – образец S, *в* – образец C

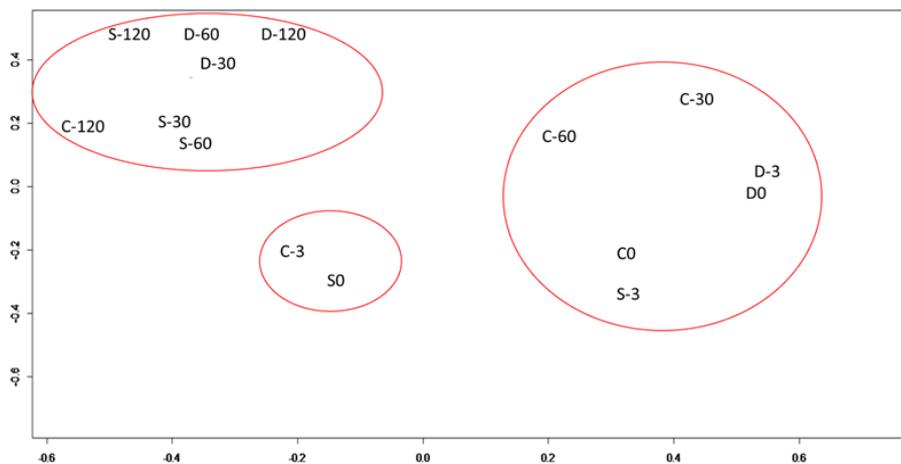


Рис. 5. Бета-разнообразие грибных сообществ почвенных образцов, отобранных в динамике эксперимента

Для того чтобы провести анализ изменения грибных сообществ с учетом всех обнаруженных ОТЕ, а также определить схожесть сообществ разных почв, была проведена оценка бета-разнообразия с использованием метода NMDS (рис. 5). Каждый из образцов был представлен следующими характеристиками: количеством ОТЕ, их принадлежностью к определенному таксону и их относительным обилием. Как видно из рис. 5, почвенные образцы объединились в три группы. Первая включала незагрязненные образцы D0, C0 и образцы D, S, отобранные в начале эксперимента (3-и сутки). К этой же группе, однако обособленно от предыдущих, относятся образцы С, отобранные на 30-е и 60-е сутки. Вторая группа является промежуточной, в которую включены образцы S0 и С. Третья группа объединила образцы D и S, отобранные на 30-е, 60-е и 120-е сутки эксперимента, а также образец С, взятый на 120-е сутки исследования. При этом необходимо обратить внимание на то, что сообщества всех образцов, отобранных на 120-е сутки, находились на наибольшем расстоянии от исходных сообществ по сравнению с остальными сообществами. В целом полученные данные свидетельствуют о том, что, несмотря на различия в доминантах, сообщества исходных почв и почв непосредственно после загрязнения являются достаточно схожими.

Заключение

Таким образом, можно заключить, что нефтяное загрязнение изменяет состав и структуру грибных сообществ почв, что выражается в смене доминирующих организмов, установленной как при анализе сообществ на уровне типов, доминирующих ОТЕ, так и при определении бета-разнообразия сообществ. Различия в исходных сообществах почв определяют и состав измененных под влиянием нефти сообществ, однако общей тенденцией является доминирование грибов, имеющих неспецифические ферментные комплексы, позволяющие осуществлять деградацию углеводов. В качестве наиболее устойчивых к действию нефти в высокой

концентрации грибов, занявших доминирующее положение в составе сообществ трех почв, отмечены грибы родов *Fusarium*, *Sagenomella*, *Mortierella*.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 17-74-20183).

Литература

1. *Ramadass K., Megharaj M., Venkateswarlu K., Naidu R.* Ecological implications of motor oil pollution: Earthworm survival and soil health // *Soil Biol. Biochem.* – 2015. – V. 85. – P. 72–81. – doi: 10.1016/j.soilbio.2015.02.026.
2. *Wang H., Kuang S., Lang Q., Yu W.* Effects of aged oil sludge on soil physicochemical properties and fungal diversity revealed by high-throughput sequencing analysis // *Archaea.* – 2018. – V. 2018. – Art. 9264259, P. 1–8. – doi: 10.1155/2018/9264259.
3. *Ayoubi S., Khormali F., Sahrawat K.L., de Lima A.C.R.* Assessing impacts of land use change on soil quality indicators in a loessial soil in Golestan Province, Iran // *J. Agric. Sci. Technol.* – 2011. – V. 13, No 5. – P. 727–742.
4. *Rosell-Melé A., Moraleda-Cibrián N., Cartró-Sabaté M., Colomer-Ventura F., Mayor P., Orta-Martínez M.* Oil pollution in soils and sediments from the Northern Peruvian Amazon // *Sci. Total Environ.* – 2018. – V. 610–611. – P. 1010–1019. – doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.07.208.
5. *Streche C., Cocârță D.M., Istrate I.A., Badea A.A.* Decontamination of petroleum-contaminated soils using the electrochemical technique: Remediation degree and energy consumption // *Sci. Rep.* – 2018. – V. 8, No 1. – Art. 3272, P. 1–14. – doi: 10.1038/s41598-018-21606-4.
6. *Gao S., Liang J., Teng T., Zhang M.* Petroleum contamination evaluation and bacterial community distribution in a historic oilfield located in loess plateau in China // *Appl. Soil Ecol.* – 2019. – V. 136. – P. 30–42. – doi: 10.1016/j.apsoil.2018.12.012.
7. *Atlas R.M.* Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: An environmental perspective // *Microbiol. Rev.* – 1981. – V. 45, No 1. – P. 180–209.
8. *Mishra S., Jyot J., Kuhad R.C., Lal B.* In situ bioremediation potential of an oily sludge-degrading bacterial consortium // *Curr. Microbiol.* – 2001. – V. 43, No 5. – P. 328–335. – doi: 10.1007/s002840010311.
9. *Pacwa-Płociniczak M., Plaza G.A., Piotrowska-Seget Z.* Monitoring the changes in a bacterial community in petroleum-polluted soil bioaugmented with hydrocarbon-degrading strains // *Appl. Soil Ecol.* – 2016. – V. 105. – P. 76–85. – doi: 10.1016/j.apsoil.2016.04.005.
10. *Cerqueira V.S., Hollenbach E.B., Maboni F., Vainstein M.H., Camargo F.A.O., Peralba M. do C.R., Bento F.M.* Biodegradation potential of oily sludge by pure and mixed bacterial cultures // *Bioresour. Technol.* – 2011. – V. 102, No 23. – P. 11003–11010. – doi: 10.1016/j.biortech.2011.09.074.
11. *Aydın S., Karaçay H.A., Shahi A., Gökçe S., Ince B., Ince O.* Aerobic and anaerobic fungal metabolism and Omics insights for increasing polycyclic aromatic hydrocarbons biodegradation // *Fungal Biol. Rev.* – 2017. – V. 31, No 2. – P. 61–72. – doi: 10.1016/j.fbr.2016.12.001.
12. *Aranda E.* Promising approaches towards biotransformation of polycyclic aromatic hydrocarbons with *Ascomycota* fungi // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2016. – V. 38. – P. 1–8. – doi: 10.1016/j.copbio.2015.12.002.

13. Chigu N.L., Hirosue S., Nakamura C., Teramoto H., Ichinose H., Wariishi H. Cytochrome P450 monooxygenases involved in anthracene metabolism by the white-rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium* // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2010. – V. 87, No 5. – P. 1907–1916. – doi: 10.1007/s00253-010-2616-1.
14. Tiwari J.N., Reddy M.M.K., Patel D.K., Jain S.K., Murthy R.C., Manickam N. Isolation of pyrene degrading *Achromobacter xylooxidans* and characterization of metabolic product // World J. Microbiol. Biotechnol. – 2010. – V. 26, No 10. – P. 1727–1733. – doi: 10.1007/s11274-010-0350-6.
15. Ning D., Wang H., Ding C., Lu H. Novel evidence of cytochrome P450-catalyzed oxidation of phenanthrene in *Phanerochaete chrysosporium* under ligninolytic conditions // Biodegradation. – 2010. – V. 21, No 6. – P. 889–901. – doi: 10.1007/s10532-010-9349-9.
16. Ichinose H. Cytochrome P450 of wood-rotting basidiomycetes and biotechnological applications // Biotechnol. Appl. Biochem. – 2013. – V. 60, No 1. – P. 71–81. – doi: 10.1002/bab.1061.
17. Radha K.V., Regupathi I., Arunagiri A., Murugesan T. Decolorization studies of synthetic dyes using *Phanerochaete chrysosporium* and their kinetics // Process Biochem. – 2005. – V. 40, No 10. – P. 3337–3345. – doi: 10.1016/j.procbio.2005.03.033.
18. Selvam K., Swaminathan K., Chae K.S. Decolourization of azo dyes and a dye industry effluent by a white rot fungus *Thelephora* sp. // Bioresour. Technol. – 2003. – V. 88, No 2. – P. 115–119. – doi: 10.1016/S0960-8524(02)00280-8.
19. Chikere C.B., Okpokwasili G.C., Chikere B.O. Monitoring of microbial hydrocarbon remediation in the soil // 3 Biotech. – 2011. – V. 1, No 3. – P. 117–138. – doi: 10.1007/s13205-011-0014-8.
20. Hatakka A. Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: Production and role from in lignin degradation // FEMS Microbiol. Rev. – 1994. – V. 13, No 2–3. – P. 125–135. – doi: 10.1111/j.1574-6976.1994.tb00039.x.
21. Peláez F., Martínez M.J., Martínez A.T. Screening of 68 species of basidiomycetes for enzymes involved in lignin degradation // Mycol. Res. – 1995. – V. 99, No 1. – P. 37–42. – doi: 10.1016/S0953-7562(09)80313-4.
22. Jayasinghe C., Imtiaj A., Lee G.W., Im K.H., Hur H., Lee M.W., Yang H.-S., Lee T.-S. Degradation of three aromatic dyes by white rot fungi and the production of ligninolytic enzymes // Mycobiology. – 2008. – V. 36, No 2. – P. 114–120. – doi: 10.4489/MYCO.2008.36.2.114.
23. Jong E., Field J.A., Bont J.A.M. Aryl alcohols in the physiology of ligninolytic fungi // FEMS Microbiol. Rev. – 1994. – V. 13, No 2–3. – P. 153–187. – doi: 10.1111/j.1574-6976.1994.tb00041.x.
24. Lumibao C.Y., Formel S., Elango V., Pardue J.H., Blum M., Van Bael S.A. Persisting responses of salt marsh fungal communities to the Deepwater Horizon oil spill // Sci. Total Environ. – 2018. – V. 642. – P. 904–913. – doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.06.077.
25. Mikolasch A., Donath M., Reinhard A., Herzer C., Zayadan B., Urich T., Schauer F. Diversity and degradative capabilities of bacteria and fungi isolated from oil-contaminated and hydrocarbon-polluted soils in Kazakhstan // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2019. – V. 103, No 17. – P. 7261–7274. – doi: 10.1007/s00253-019-10032-9.
26. Vasco M.F., Cepero M.C., Restrepo S., Vives-Florez M.J. Recovery of mitosporic fungi actively growing in soils after bacterial bioremediation of oily sludge and their potential for removing recalcitrant hydrocarbons // Int. Biodeterior. Biodegrad. – 2011. – V. 65, No 4. – P. 649–655. – doi: 10.1016/j.ibiod.2010.12.014.

27. *Nkwelang G., Kamga H.F.L., Nkeng G.E., Antai S.P.* Studies on the diversity, abundance and succession of hydrocarbon utilizing micro organisms in tropical soil polluted with oily sludge // *Afr. J. Biotechnol.* – 2008. – V. 7, No 8. – P. 1075–1080.
28. *Llanos C., Kjoller A.* Changes in the flora of soil fungi following oil waste application // *Oikos.* – 1976. – V. 27, No 3. – P. 377–382. – doi: 10.2307/3543456.
29. *Bundy J.G., Paton G.I., Campbell C.D.* Microbial communities in different soil types do not converge after diesel contamination // *J. Appl. Microbiol.* – 2002. – V. 92, No 2. – P. 276–288. – doi: 10.1046/j.1365-2672.2002.01528.x.
30. *Stamets P.* Mycelium Running: How Mushrooms Can Help Save the World. – Berkeley, CA: Ten Speed Press., 2005. – 356 p.
31. ГОСТ 17.4.4.02-2017 Охрана природы (ССОП). Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа. – М.: Стандартинформ, 2017. – 12 с.
32. Руководство по анализу битумов и рассеянного органического вещества горных пород / Под ред. В.А. Успенского, К.Ф. Родионовой, А.И. Горской, А.П. Шишковой. – Л.: Недра, 1966. – 316 с.
33. *Хуснутдинов И.Ш., Бухаров С.В., Гончарова И.Н.* Определение содержания смолисто-асфальтовых веществ: Метод. указания. – Казань: Казан. гос. технол. ун-т, 2006. – 44 p.
34. *Liu C.M., Kachur S., Dwan M.G., Abraham A.G., Aziz M., Hsueh P.R., Huang Y.T., Busch J.D., Lamit L.J., Gehring C.A., Keim P., Price L.B.* FungiQuant: A broad-coverage fungal quantitative real-time PCR assay // *BMC Microbiol.* – 2012. – V. 12. – Art. 255, P. 1–11. – doi: 10.1186/1471-2180-12-255.
35. *Faith D.P., Minchin P.R., Belbin L.* Compositional dissimilarity as a robust measure of ecological distance // *Vegetatio.* – 1987. – V. 69, No 1. – P. 57–68. – doi: 10.1007/BF00038687.
36. *Lladó S., Gràcia E., Solanas A.M., Viñas M.* Fungal and bacterial microbial community assessment during bioremediation assays in an aged creosote-polluted soil // *Soil Biol. Biochem.* – 2013. – V. 67. – P. 114–123. – doi: 10.1016/j.soilbio.2013.08.010.
37. *Martin-Sanchez P.M., Gorbushina A.A., Toepel J.* Quantification of microbial load in diesel storage tanks using culture- and qPCR-based approaches // *Int. Biodeterior. Biodegrad.* – 2018. – V. 126. – P. 216–223. – doi: 10.1016/j.ibiod.2016.04.009.
38. *Ezekoye C.C., Chikere C.B., Okpokwasili G.C.* Fungal diversity associated with crude oil-impacted soil undergoing in-situ bioremediation // *Sustain. Chem. Pharm.* – 2018. – V. 10. – P. 148–152. – doi: 10.1016/j.scp.2018.11.003.
39. *Zhou Z.F., Wang M.X., Zuo X.H., Yao Y.H.* Comparative investigation of bacterial, fungal, and archaeal community structures in soils in a typical oilfield in Jiangnan, China // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* – 2017. – V. 72, No 1. – P. 65–77. – doi: 10.1007/s00244-016-0333-1.
40. *Zhou H., Huang X., Bu K., Wen F., Zhang D., Zhang C.* Fungal proliferation and hydrocarbon removal during biostimulation of oily sludge with high total petroleum hydrocarbon // *Environ. Sci. Pollut. Res.* – 2019. – V. 26, No 32. – P. 33192–33201. – doi: 10.1007/s11356-019-06432-z.
41. *Liu X.-Z., Wang Q.-M., Göker M., Groenewald M., Kachalkin A.V., Lumbsch H.T., Millanes A.M., Wedin M., Yurkov A.M., Boekhout T., Bai F.-Y.* Towards an integrated phylogenetic classification of the *Tremellomycetes* // *Stud. Mycol.* – 2015. – V. 81. – P. 85–147. – doi: 10.1016/j.simyco.2015.12.001.
42. *Summerbell R.C.* Root endophyte and mycorrhizosphere fungi of black spruce, *Picea mariana*, in a boreal forest habitat: Influence of site factors on fungal distributions // *Stud. Mycol.* – 2005. – V. 53. – P. 121–145. – doi: 10.3114/sim.53.1.121.

43. *Nguyen H.D.T., Seifert K.A.* Description and DNA barcoding of three new species of *Leohumicola* from South Africa and the United States // *Persoonia*. – 2008. – V. 21. – P. 57–69. – doi: 10.3767/003158508X361334.
44. *Štursová M., Šnajdr J., Cajthaml T., Bárta J., Šantrůčková H., Baldrian P.* When the forest dies: The response of forest soil fungi to a bark beetle-induced tree dieback // *ISME J.* – 2014. – V. 8, No 9. – P. 1920–1931. – doi: 10.1038/ismej.2014.37.
45. *Martin F., Kohler A., Duplessis S.* Living in harmony in the wood underground: Ectomycorrhizal genomics // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2007. – V. 10, No 2. – P. 204–210. – doi: 10.1016/j.pbi.2007.01.006.
46. *Zhang T., Wang N.-F., Liu H.-Y., Zhang Y.-Q., Yu L.-Y.* Soil pH is a key determinant of soil fungal community composition in the Ny-Ålesund Region, Svalbard (High Arctic) // *Front. Microbiol.* – 2016. – V. 7. – Art. 227, P. 1–10. – doi: 10.3389/fmicb.2016.00227.
47. *Rybczyńska-Tkaczyk K., Kornilowicz-Kowalska T.* Activities of versatile peroxidase in cultures of *Clonostachys rosea* f. *catenulata* and *Clonostachys rosea* f. *rosea* during biotransformation of alkali lignin // *J. AOAC Int.* – 2018. – V. 101, No 5. – P. 1415–1421. – doi: 10.5740/jaoacint.18-0058.
48. *Covino S., Stella T., D'Annibale A., Lladó S., Baldrian P., Čvančarová M., Cajthaml T., Petruccioli M.* Comparative assessment of fungal augmentation treatments of a fine-textured and historically oil-contaminated soil // *Sci. Total Environ.* – 2016. – V. 566–567. – P. 250–259. – doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.05.018.
49. *Siegel-Hertz K., Edel-Hermann V., Chapelle E., Terrat S., Raaijmakers J.M., Steinberg C.* Comparative microbiome analysis of a *Fusarium* wilt suppressive soil and a *Fusarium* wilt conducive soil from the Châteaurenard region // *Front. Microbiol.* – 2018. – V. 9. – Art. 568, P. 1–16. – doi: 10.3389/fmicb.2018.00568.
50. *Shen W., Zhu N., Cui J., Wang H., Dang Z., Wu P., Luo Y., Shi C.* Ecotoxicity monitoring and bioindicator screening of oil-contaminated soil during bioremediation // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* – 2016. – V. 124. – P. 120–128. – doi: 10.1016/j.ecoenv.2015.10.005.
51. *Wang Y., Xu J., Shen J., Luo Y., Scheu S., Ke X.* Tillage, residue burning and crop rotation alter soil fungal community and water-stable aggregation in arable fields // *Soil Tillage Res.* – 2010. – V. 107, No 2. – P. 71–79. – doi: 10.1016/j.still.2010.02.008.
52. *Zhou D., Jing T., Chen Y., Wang F., Qi D., Feng R., Xie J., Li H.* Deciphering microbial diversity associated with *Fusarium* wilt-diseased and disease-free banana rhizosphere soil // *BMC Microbiol.* – 2019. – V. 19, No 1. – Art. 161, P. 1–13. – doi: 10.1186/s12866-019-1531-6.
53. *Torres M.S., White J.F.* Clavicipitaceae: Free-living and saprotrophs to plant endophytes // *Encyclopedia of Microbiology (Third Edition)*. – Acad. Press, 2009. – P. 422–430. – doi: 10.1016/B978-012373944-5.00329-1.
54. *Osono T.* Functional diversity of ligninolytic fungi associated with leaf litter decomposition // *Ecol. Res.* – 2020. – V. 35, No 1. – P. 30–43. – doi: 10.1111/1440-1703.12063.
55. *Chen D.M., Taylor A.F.S., Burke R.M., Cairney J.W.G.* Identification of genes for lignin peroxidases and manganese peroxidases in ectomycorrhizal fungi // *New Phytol.* – 2001. – V. 152, No 1. – P. 151–158. – doi: 10.1046/j.0028-646x.2001.00232.x.
56. *Chen D.M., Bastias B.A., Taylor A.F.S., Cairney J.W.G.* Identification of laccase-like genes in ectomycorrhizal basidiomycetes and transcriptional regulation by nitrogen in *Piloderma byssinum* // *New Phytol.* – 2003. – V. 157, No 3. – P. 547–554. – doi: 10.1046/j.1469-8137.2003.00687.x.
57. *Floudas D., Binder M., Riley R., Barry K., Blanchette R.A., Henrissat B., Martínez A.T., Otillar R., Spatafora J.W., Yadav J.S., Aerts A., Benoit I., Boyd A., Carlson A., Copeland A., Coutinho P.M., de Vries R.P., Ferreira P., Findley K., Foster B., Gaskell J., Glotzer D.,*

- Górecki P., Heitman J., Hesse C., Hori Ch., Igarashi K., Jurgens J.A., Kallen N., Kersten Ph., Kohler A., Kües U., Kumar T.K.A., Kuo A., LaButti K., Larrondo L.F., Lindquist E., Ling A., Lombard V., Lucas S., Lundell T., Martin R., McLaughlin D.J., Morgenstern I., Morin E., Murat C., Nagy L.G., Nolan M., Ohm R.A., Patyshakuliyeva A., Rokas A., Ruiz-Dueñas F.J., Sabat G., Salamov A., Samejima M., Schmutz J., Slot J.C., John F.St., Stenlid J., Sun H., Sun Sh., Syed K., Tsang A., Wiebenga A., Young D., Pisabarro A., Eastwood D.C., Martin F., Cullen D., Grigoriev I.V., Hibbett D.S.* The paleozoic origin of enzymatic lignin decomposition reconstructed from 31 fungal genomes // *Science*. – 2012. – V. 336, No 6089. – P. 1715–1719. – doi: 10.1126/science.1221748.
58. *Qhanya L.B., Matowane G., Chen W., Sun Y., Letsimo E.M., Parvez M., Yu J.H., Mashele S.S., Syed K.* Genome-wide annotation and comparative analysis of cytochrome P450 monooxygenases in basidiomycete biotrophic plant pathogens // *PLoS ONE*. – 2015. – V. 10, No 11. – Art. e0142100, P. 1–17. – doi: 10.1371/journal.pone.0142100.
59. *Syed K., Porollo A., Lam Y.W., Yadav J.S.* A fungal P450 (CYP5136A3) capable of oxidizing polycyclic aromatic hydrocarbons and endocrine disrupting alkylphenols: Role of Trp129 and Leu324 // *PLoS ONE*. – 2011. – V. 6, No 12. – Art. e28286, P. 1–14. – doi: 10.1371/journal.pone.0028286.
60. *Akapo O.O., Padayachee T., Chen W., Kappo A.P., Yu J.H., Nelson D.R., Syed K.* Distribution and diversity of cytochrome P450 monooxygenases in the fungal class *Tremellomycetes* // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – V. 20, No 12. – Art. 2889, P. 1–14. – doi: 10.3390/ijms20122889.

Поступила в редакцию
21.05.2020

Бикташева Лилия Рамилевна, младший научный сотрудник НИЛ «Биоконтроль»

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: biktasheval@mail.ru

Селивановская Светлана Юрьевна, доктор биологических наук, профессор кафедры прикладной экологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: svetlana.selivanovskaya@kpfu.ru

Галицкая Полина Юрьевна, доктор биологических наук, доцент кафедры прикладной экологии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: gpolina33@yandex.ru

doi: 10.26907/2542-064X.2020.4.573-591

**Changes in the Structure of the Fungal Soil Community Induced
by Contamination with High Oil Contents under the Laboratory Conditions**L.R. Biktasheva^{*}, S.Y. Selivanovskaya^{**}, P.Y. Galitskaya^{***}

Kazan Federal University, Kazan, 420008 Russia

E-mail: ^{*}biktasheval@mail.ru, ^{**}svetlana.selivanovskaya@kpfu.ru, ^{***}gpolina33@yandex.ru

Received May 21, 2020

Abstract

Changes in the fungal communities of three oil-contaminated soil samples (D, S, and C) with different contents of organic carbon (0.8%, 1.9%, and 4.5%) were investigated. All samples were contaminated with oil at a concentration of 120 g kg⁻¹ and incubated for 120 days. The addition of oil to the soil induced an approximately two-fold decrease in the abundance of fungi with its subsequent restoration up to the baseline level in samples S and C. In sample D, however, it remained low throughout the experiment. With the help of the Illumina MiSeq high-throughput sequencing, it was revealed that the fungal communities of the oil-contaminated samples S and C were least resistant to the oil contamination (the first changes were registered on the third day of incubation) as compared to sample D that suffered the first structural changes on the 30th day of the experiment. After 120 days of the incubation, selective dominance of the following fungi was recorded: sample D – the genus *Fusarium* (34%) and the family Clavicipitaceae (20%); sample S – the genus *Fusarium* (82%); sample C – the genera *Fusarium* (56%) and *Mortierella* (21%). The results of the NMDS analysis demonstrate that the communities of all oil-contaminated samples were reliably different from the communities of control soils since the 30th day of the experiment. Notably, the differences observed intensified with time.

Keywords: oil-contaminated soils, fungal community, sequencing**Acknowledgments.** The study was supported by the Russian Science Foundation (project no. 17-74-20183).**Figure Captions**

Fig. 1. Concentration of hydrocarbons.

Fig. 2. Abundance of fungi in soil samples D, S, and C throughout the experiment. Mean values and standard error (SE) of the mean are given.

Fig. 3. Structural dynamics of the fungal communities depending on the fungal type.

Fig. 4. Structural dynamics of the fungal communities depending on the major taxonomic units: *a* – sample D, *b* – sample S, *c* – sample C.Fig. 5. β -diversity of the fungal communities in the soil samples studied during the experiment.**References**

1. Ramadass K., Megharaj M., Venkateswarlu K., Naidu R. Ecological implications of motor oil pollution: Earthworm survival and soil health. *Soil Biol. Biochem.*, 2015, vol. 85, pp. 72–81.
2. Wang H., Kuang S., Lang Q., Yu W. Effects of aged oil sludge on soil physicochemical properties and fungal diversity revealed by high-throughput sequencing analysis. *Archaea*, 2018, vol. 2018, art. 9264259, pp. 1–8. doi: 10.1155/2018/9264259.

3. Ayoubi S., Khormali F., Sahrawat K.L., de Lima A.C.R. Assessing impacts of land use change on soil quality indicators in a loessial soil in Golestan Province, Iran. *J. Agric. Sci. Technol.*, 2011, vol. 13, no. 5, pp. 727–742.
4. Rosell-Melé A., Moraleda-Cibrián N., Cartró-Sabaté M., Colomer-Ventura F., Mayor P., Orta-Martínez M. Oil pollution in soils and sediments from the Northern Peruvian Amazon. *Sci. Total Environ.*, 2018, vols. 610–611, pp. 1010–1019. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.07.208.
5. Streche C., Cocârță D.M., Istrate I.A., Badea A.A. Decontamination of petroleum-contaminated soils using the electrochemical technique: Remediation degree and energy consumption. *Sci. Rep.*, 2018, vol. 8, no. 1, art. 3272, pp. 1–14. doi: 10.1038/s41598-018-21606-4.
6. Gao S., Liang J., Teng T., Zhang M. Petroleum contamination evaluation and bacterial community distribution in a historic oilfield located in loess plateau in China. *Appl. Soil Ecol.*, 2019, vol. 136, pp. 30–42. doi: 10.1016/j.apsoil.2018.12.012.
7. Atlas R.M. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: An environmental perspective. *Microbiol. Rev.*, 1981, vol. 45, no. 1, pp. 180–209.
8. Mishra S., Jyot J., Kuhad R.C., Lal B. In situ bioremediation potential of an oily sludge-degrading bacterial consortium. *Curr. Microbiol.*, 2001, vol. 43, no. 5, pp. 328–335. doi: 10.1007/s002840010311.
9. Pacwa-Plóciniczak M., Płaza G.A., Piotrowska-Seget Z. Monitoring the changes in a bacterial community in petroleum-polluted soil bioaugmented with hydrocarbon-degrading strains. *Appl. Soil Ecol.*, 2016, vol. 105, pp. 76–85. doi: 10.1016/j.apsoil.2016.04.005.
10. Cerqueira V.S., Hollenbach E.B., Maboni F., Vainstein M.H., Camargo F.A.O., Peralba M. do C.R., Bento F.M. Biodegradation potential of oily sludge by pure and mixed bacterial cultures. *Bioresour. Technol.*, 2011, vol. 102, no. 23, pp. 11003–11010. doi: 10.1016/j.biortech.2011.09.074.
11. Aydin S., Karaçay H.A., Shahi A., Gökçe S., Ince B., Ince O. Aerobic and anaerobic fungal metabolism and Omics insights for increasing polycyclic aromatic hydrocarbons biodegradation. *Fungal Biol. Rev.*, 2017, vol. 31, no. 2, pp. 61–72. doi: 10.1016/j.fbr.2016.12.001.
12. Aranda E. Promising approaches towards biotransformation of polycyclic aromatic hydrocarbons with *Ascomycota* fungi. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2016, vol. 38, pp. 1–8. doi: 10.1016/j.copbio.2015.12.002.
13. Chigu N.L., Hirose S., Nakamura C., Teramoto H., Ichinose H., Wariishi H. Cytochrome P450 monooxygenases involved in anthracene metabolism by the white-rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2010, vol. 87, no. 5, pp. 1907–1916. doi: 10.1007/s00253-010-2616-1.
14. Tiwari J.N., Reddy M.M.K., Patel D.K., Jain S.K., Murthy R.C., Manickam N. Isolation of pyrene degrading *Achromobacter xylooxidans* and characterization of metabolic product. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2010, vol. 26, no. 10, pp. 1727–1733. doi: 10.1007/s11274-010-0350-6.
15. Ning D., Wang H., Ding C., Lu H. Novel evidence of cytochrome P450-catalyzed oxidation of phenanthrene in *Phanerochaete chrysosporium* under ligninolytic conditions. *Biodegradation*, 2010, vol. 21, no. 6, pp. 889–901. doi: 10.1007/s10532-010-9349-9.
16. Ichinose H. Cytochrome P450 of wood-rotting basidiomycetes and biotechnological applications. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 2013, vol. 60, no. 1, pp. 71–81. doi: 10.1002/bab.1061.
17. Radha K. V., Regupathi I., Arunagiri A., Murugesan T. Decolorization studies of synthetic dyes using *Phanerochaete chrysosporium* and their kinetics. *Process Biochem.*, 2005, vol. 40, no. 10, pp. 3337–3345. doi: 10.1016/j.procbio.2005.03.033.
18. Selvam K., Swaminathan K., Chae K.S. Decolourization of azo dyes and a dye industry effluent by a white rot fungus *Thelephora* sp. *Bioresour. Technol.*, 2003, vol. 88, no. 2, pp. 115–119. doi: 10.1016/s0960-8524(02)00280-8.
19. Chikere C.B., Okpokwasili G.C., Chikere B.O. Monitoring of microbial hydrocarbon remediation in the soil. *3 Biotech*, 2011, vol. 1, no. 3, pp. 117–138. doi: 10.1007/s13205-011-0014-8.
20. Hatakka A. Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: Production and role from in lignin degradation. *FEMS Microbiol. Rev.*, 1994, vol. 13, nos. 2–3, pp. 125–135. doi: 10.1111/j.1574-6976.1994.tb00039.x.
21. Peláez F., Martínez M.J., Martínez A.T. Screening of 68 species of basidiomycetes for enzymes involved in lignin degradation. *Mycol. Res.*, 1995, vol. 99, no. 1, pp. 37–42. doi: 10.1016/S0953-7562(09)80313-4.

22. Jayasinghe C., Imtiaj A., Lee G.W., Im K.H., Hur H., Lee M.W., Yang H.-S., Lee T.-S. Degradation of three aromatic dyes by white rot fungi and the production of ligninolytic enzymes. *Mycobiology*, 2008, vol. 36, no. 2, pp. 114–120. doi: 10.4489/MYCO.2008.36.2.114.
23. Jong E., Field J.A., Bont J.A.M. Aryl alcohols in the physiology of ligninolytic fungi. *FEMS Microbiol. Rev.*, 1994, vol. 13, nos. 2–3, pp. 153–187. doi: 10.1111/j.1574-6976.1994.tb00041.x.
24. Lumibao C.Y., Formel S., Elango V., Pardue J.H., Blum M., Van Bael S.A. Persisting responses of salt marsh fungal communities to the Deepwater Horizon oil spill. *Sci. Total Environ.*, 2018, vol. 642, pp. 904–913. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.06.077.
25. Mikolasch A., Donath M., Reinhard A., Herzer C., Zayadan B., Urich T., Schauer F. Diversity and degradative capabilities of bacteria and fungi isolated from oil-contaminated and hydrocarbon-polluted soils in Kazakhstan. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2019, vol. 103, no. 17, pp. 7261–7274. doi: 10.1007/s00253-019-10032-9.
26. Vasco M.F., Cepero M.C., Restrepo S., Vives-Florez M.J. Recovery of mitosporic fungi actively growing in soils after bacterial bioremediation of oily sludge and their potential for removing recalcitrant hydrocarbons. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 2011, vol. 65, no. 4, pp. 649–655. doi: 10.1016/j.ibiod.2010.12.014.
27. Nkwelang G., Kamga H.F.L., Nkeng G.E., Antai S.P. Studies on the diversity, abundance and succession of hydrocarbon utilizing micro organisms in tropical soil polluted with oily sludge. *Afr. J. Biotechnol.*, 2008, vol. 7, no. 8, pp. 1075–1080.
28. Llanos C., Kjølner A. Changes in the flora of soil fungi following oil waste application. *Oikos*, 1976, vol. 27, no. 3, pp. 377–382. doi: 10.2307/3543456.
29. Bundy J.G., Paton G.I., Campbell C.D. Microbial communities in different soil types do not converge after diesel contamination. *J. Appl. Microbiol.*, 2002, vol. 92, no. 2, pp. 276–288. doi: 10.1046/j.1365-2672.2002.01528.x.
30. Stamets P. *Mycelium Running: How Mushrooms Can Help Save the World*. Berkeley, CA, Ten Speed Press., 2005. 356 p.
31. State Standard 17.4.4.02-2017. Nature protection (environmental management system). Soils. Methods for sampling and preparation of soil samples for chemical, bacteriological, and helminthological analyses. Moscow, Standartinform, 2017. 12 p. (In Russian)
32. Uspenskii V.A., Rodionova K.F., Gorskaya A.I., Shishkova A.P. (Eds.) *Rukovodstvo po analizu bitumov i rasseyannogo organicheskogo veshchestva gornykh porod* [Handbook on Analysis of Bitumens and Dispersed Organic Matter in Rocks]. Leningrad, Nedra, 1966. 316 p. (In Russian)
33. Khusnutdinov I.Sh., Bukharov S.V., Goncharova I.N. *Opredelenie sodержaniya smolisto-asfal'tovykh veshchestv* [Measuring the Concentration of Tar-Asphalt Substances]. Kazan, Kazan. Gos. Tekhnol. Univ., 2006. 44 p. (In Russian)
34. Liu C.M., Kachur S., Dwan M.G., Abraham A.G., Aziz M., Hsueh P.R., Huang Y.T., Busch J.D., Lamit L.J., Gehring C.A., Keim P., Price L.B. FungiQuant: A broad-coverage fungal quantitative real-time PCR assay. *BMC Microbiol.*, 2012, vol. 12, art. 255, pp. 1–11. doi: 10.1186/1471-2180-12-255.
35. Faith D.P., Minchin P.R., Belbin L. Compositional dissimilarity as a robust measure of ecological distance. *Vegetatio*, 1987, vol. 69, no. 1, pp. 57–68. doi: 10.1007/BF00038687.
36. Lladó S., Gràcia E., Solanas A.M., Viñas M. Fungal and bacterial microbial community assessment during bioremediation assays in an aged creosote-polluted soil. *Soil Biol. Biochem.*, 2013, vol. 67, pp. 114–123. doi: 10.1016/j.soilbio.2013.08.010.
37. Martin-Sanchez P.M., Gorbushina A.A., Toepel J. Quantification of microbial load in diesel storage tanks using culture- and qPCR-based approaches. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 2018, vol. 126, pp. 216–223. doi: 10.1016/j.ibiod.2016.04.009.
38. Ezekoye C.C., Chikere C.B., Okpokwasili G.C. Fungal diversity associated with crude oil-impacted soil undergoing in-situ bioremediation. *Sustainable Chem. Pharm.*, 2018, vol. 10, pp. 148–152. doi: 10.1016/j.scp.2018.11.003.
39. Zhou Z.F., Wang M.X., Zuo X.H., Yao Y.H. Comparative investigation of bacterial, fungal, and archaeal community structures in soils in a typical oilfield in Jiangnan, China. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 2017, vol. 72, no. 1, pp. 65–77. doi: 10.1007/s00244-016-0333-1.

40. Zhou H., Huang X., Bu K., Wen F., Zhang D., Zhang C. Fungal proliferation and hydrocarbon removal during biostimulation of oily sludge with high total petroleum hydrocarbon. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2019, vol. 26, no. 32, pp. 33192–33201. doi: 10.1007/s11356-019-06432-z.
41. Liu X.-Z., Wang Q.-M., Göker M., Groenewald M., Kachalkin A. V., Lumbsch H.T., Millanes A.M., Wedin M., Yurkov A.M., Boekhout T., Bai F.-Y. Towards an integrated phylogenetic classification of the *Tremellomycetes*. *Stud. Mycol.*, 2015, vol. 81, pp. 85–147. doi: 10.1016/j.simyco.2015.12.001.
42. Summerbell R.C. Root endophyte and mycorrhizosphere fungi of black spruce, *Picea mariana*, in a boreal forest habitat: Influence of site factors on fungal distributions. *Stud. Mycol.*, 2005, vol. 53, pp. 121–145. doi: 10.3114/sim.53.1.121.
43. Nguyen H.D.T., Seifert K.A. Description and DNA barcoding of three new species of *Leohumicola* from South Africa and the United States. *Persoonia*, 2008, vol. 21, pp. 57–69. doi: 10.3767/003158508X361334.
44. Štursová M., Šnajdr J., Cajthaml T., Bárta J., Šantrůčková H., Baldrian P. When the forest dies: The response of forest soil fungi to a bark beetle-induced tree dieback. *ISME J.*, 2014, vol. 8, no. 9, pp. 1920–1931. doi: 10.1038/ismej.2014.37.
45. Martin F., Kohler A., Duplessis S. Living in harmony in the wood underground: Ectomycorrhizal genomics. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2007, vol. 10, no. 2, pp. 204–210. doi: 10.1016/j.pbi.2007.01.006.
46. Zhang T., Wang N.-F., Liu H.-Y., Zhang Y.-Q., Yu L.-Y. Soil pH is a key determinant of soil fungal community composition in the Ny-Ålesund Region, Svalbard (High Arctic). *Front. Microbiol.*, 2016, vol. 7, art. 227, pp. 1–10. doi: 10.3389/fmicb.2016.00227.
47. Rybczyńska-Tkaczyk K., Kornilowicz-Kowalska T. Activities of versatile peroxidase in cultures of *Clonostachys rosea* f. *catenulata* and *Clonostachys rosea* f. *rosea* during biotransformation of alkali lignin. *J. AOAC Int.*, 2018, vol. 101, no. 5, pp. 1415–1421. doi: 10.5740/jaoacint.18-0058.
48. Covino S., Stella T., D'Annibale A., Lladó S., Baldrian P., Čvančarová M., Cajthaml T., Petruccioli M. Comparative assessment of fungal augmentation treatments of a fine-textured and historically oil-contaminated soil. *Sci. Total Environ.*, 2016, vol. 566–567, pp. 250–259. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.05.018.
49. Siegel-Hertz K., Edel-Hermann V., Chapelle E., Terrat S., Raaijmakers J.M., Steinberg C. Comparative microbiome analysis of a Fusarium wilt suppressive soil and a Fusarium wilt conducive soil from the Châteaurenard region. *Front. Microbiol.*, 2018, vol. 9, art. 568, pp. 1–16. doi: 10.3389/fmicb.2018.00568.
50. Shen W., Zhu N., Cui J., Wang H., Dang Z., Wu P., Luo Y., Shi C. Ecotoxicity monitoring and bioindicator screening of oil-contaminated soil during bioremediation. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2016, vol. 124, pp. 120–128. doi: 10.1016/j.ecoenv.2015.10.005.
51. Wang Y., Xu J., Shen J., Luo Y., Scheu S., Ke X. Tillage, residue burning and crop rotation alter soil fungal community and water-stable aggregation in arable fields. *Soil Tillage Res.*, 2010, vol. 107, no. 2, pp. 71–79. doi: 10.1016/j.still.2010.02.008.
52. Zhou D., Jing T., Chen Y., Wang F., Qi D., Feng R., Xie J., Li H. Deciphering microbial diversity associated with *Fusarium* wilt-diseased and disease-free banana rhizosphere soil. *BMC Microbiol.*, 2019, vol. 19, no. 1, art. 161, pp. 1–13. doi: 10.1186/s12866-019-1531-6.
53. Torres M.S., White J.F. Clavicipitaceae: free-living and saprotrophs to plant endophytes. In: *Encyclopedia of Microbiology*. Acad. Press, 2009, pp. 422–430. doi: 10.1016/B978-012373944-5.00329-1.
54. Osono T. Functional diversity of ligninolytic fungi associated with leaf litter decomposition. *Ecol. Res.*, 2020, vol. 35, no. 1, pp. 30–43. doi: 10.1111/1440-1703.12063.
55. Chen D.M., Taylor A.F.S., Burke R.M., Cairney J.W.G. Identification of genes for lignin peroxidases and manganese peroxidases in ectomycorrhizal fungi. *New Phytol.*, 2001, vol. 152, no. 1, pp. 151–158. doi: 10.1046/j.0028-646x.2001.00232.x.
56. Chen D.M., Bastias B.A., Taylor A.F.S., Cairney J.W.G. Identification of laccase-like genes in ectomycorrhizal basidiomycetes and transcriptional regulation by nitrogen in *Piloderma byssinum*. *New Phytol.*, 2003, vol. 157, no. 3, pp. 547–554. doi: 10.1046/j.1469-8137.2003.00687.x.
57. Floudas D., Binder M., Riley R., Barry K., Blanchette R.A., Henrissat B., Martínez A.T., Otilar R., Spatafora J.W., Yadav J.S., Aerts A., Benoit I., Boyd A., Carlson A., Copeland A., Coutinho P.M., de Vries R.P., Ferreira P., Findley K., Foster B., Gaskell J., Glotzer D., Górecki P., Heitman J.,

- Hesse C., Hori Ch., Igarashi K., Jurgens J.A., Kallen N., Kersten Ph., Kohler A., Kües U., Kumar T.K.A., Kuo A., LaButti K., Larrondo L.F., Lindquist E., Ling A., Lombard V., Lucas S., Lundell T., Martin R., McLaughlin D.J., Morgenstern I., Morin E., Murat C., Nagy L.G., Nolan M., Ohm R.A., Patyshakuliyeva A., Rokas A., Ruiz-Dueñas F.J., Sabat G., Salamov A., Samejima M., Schmutz J., Slot J.C., John F.St., Stenlid J., Sun H., Sun Sh., Syed K., Tsang A., Wiebenga A., Young D., Pisabarro A., Eastwood D.C., Martin F., Cullen D., Grigoriev I.V., Hibbett D.S. The paleozoic origin of enzymatic lignin decomposition reconstructed from 31 fungal genomes. *Science*, 2012, vol. 336, no. 6089, pp. 1715–1719. doi: 10.1126/science.1221748.
58. Qhanya L.B., Matowane G., Chen W., Sun Y., Letsimo E.M., Parvez M., Yu J.H., Mashele S.S., Syed K. Genome-wide annotation and comparative analysis of cytochrome P450 monooxygenases in basidiomycete biotrophic plant pathogens. *PLoS One*, 2015, vol. 10, no. 11, art. e0142100, pp. 1–17. doi: 10.1371/journal.pone.0142100.
59. Syed K., Porollo A., Lam Y.W., Yadav J.S. A fungal P450 (CYP5136A3) capable of oxidizing polycyclic aromatic hydrocarbons and endocrine disrupting alkylphenols: Role of Trp129 and Leu324. *PLoS ONE*, 2011, vol. 6, no. 12, art. e28286, pp. 1–14. doi: 10.1371/journal.pone.0028286.
60. Akapo O.O., Padayachee T., Chen W., Kappo A.P., Yu J.H., Nelson D.R., Syed K. Distribution and diversity of cytochrome p450 monooxygenases in the fungal class *Tremellomycetes*. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, vol. 20, no. 12, art. 2889, pp. 1–14. doi: 10.3390/ijms20122889.

Для цитирования: Бикташева Л.Р., Селивановская С.Ю., Галицкая П.Ю. Изменение структуры грибного сообщества почв при высоком содержании нефти в условиях модельного эксперимента // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2020. – Т. 162, кн. 4. – С. 573–591. – doi: 10.26907/2542-064X.2020.4.573-591.

For citation: Biktasheva L.R., Selivanovskaya S.Y., Galitskaya P.Y. Changes in the structure of the fungal soil community induced by contamination with high oil contents under the laboratory conditions. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2020, vol. 162, no. 4, pp. 573–591. doi: 10.26907/2542-064X.2020.4.573-591. (In Russian)