

УДК 504.064:631.46

## БИОДИАГНОСТИКА ПОЧВЫ С НЕВЫСОКИМ УРОВНЕМ АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

(на примере п.г.т. Степное Саратовской области)

**Е. В. Плешакова, К. Т. Нгун, М. В. Решетников**

*Саратовский национальный исследовательский государственный университет  
имени Н. Г. Чернышевского*

*Россия, 410012, Саратов, Астраханская, 83*

*E-mail: plekat@yandex.ru*

Поступила в редакцию 14.05.2018 г., после доработки 19.09.2018 г., принята 25.09.2018 г.

*Плешакова Е. В., Нгун К. Т., Решетников М. В.* Биодиагностика почвы с невысоким уровнем антропогенного воздействия (на примере п.г.т. Степное Саратовской области) // Поволжский экологический журнал. 2018. № 4. С. 447 – 464. DOI: <https://doi.org/10.18500/1684-7318-2018-4-447-464>

На примере поселка городского типа Степное Саратовской области произведена биодиагностика почвы населенного пункта с невысоким техногенным прессингом. В ходе работы в 30 почвенных пробах высевом на плотные питательные среды оценивали: общую численность гетеротрофных микроорганизмов – на мясо-пептонном агаре, количество углеводородокисляющих и железooksисляющих микроорганизмов – на соответствующих селективных средах, а также изучали активность почвенных окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов (дегидрогеназ, каталаз, пероксидаз и инвертаз). Для характеристики степени антропогенного воздействия на почву в ней определяли содержание подвижных форм меди, цинка, свинца, кадмия, хрома и никеля, рассчитывали суммарный коэффициент загрязненности почвы ( $Z_c$ ). В пределах исследованной территории было обнаружено превышение ПДК подвижных форм Ni, Cu и Pb. В целом значения суммарного коэффициента загрязненности почвы не превышали 16 единиц, указывая на благоприятную эколого-геохимическую обстановку на территории поселка. Анализ общей численности гетеротрофных микроорганизмов, количества углеводородокисляющих и железooksисляющих микроорганизмов выявил в определенных районах изученной территории отклонения от нормы, что свидетельствовало об антропогенной трансформации почвенных биоценозов. Максимальные отклонения были характерны для показателей численности углеводородокисляющих микроорганизмов, что указывало на загрязнение почвы углеводородами. Результаты оценки активности индикаторных почвенных ферментов не исключали возможные функциональные нарушения в почве. Установлено, что активность почвенных дегидрогеназ и инвертаз соответствовала бедному и очень бедному уровню обогащенности почвы данными ферментами. В то же время активность почвенных каталаз и пероксидаз соответствовала среднему и высокому уровню содержания ферментов, что свидетельствовало об отсутствии патологических изменений в почве. Показано, что изученные микробиологические и биохимические показатели почвы представляют перспективу использования для биодиагностики почвенного здоровья на территории с низким антропогенным воздействием.

*Ключевые слова:* биодиагностика, гетеротрофные, углеводородокисляющие, железooksисляющие микроорганизмы, почвенные ферменты.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1684-7318-2018-4-447-464>

## ВВЕДЕНИЕ

Проблемы загрязнения почвы тяжелыми металлами (ТМ) и углеводородами (УВ) в районах крупных городов широко освещены в отечественной и зарубежной литературе (Смагин и др., 2008; Иванов, 2015; Регионы и города России..., 2015; Su et al., 2014; Salah et al., 2015). Доказано, что, являясь опасными экотоксикантами, ТМ и УВ негативно влияют на биологические свойства почвы, угнетают биохимическую активность почвенных микроорганизмов (Галиулин, Галиулина, 2006; Кудряшов, 2010), снижают количественный и качественный состав микробоценозов (Murata et al., 2005), ингибируют активность почвенных ферментов (Tuomela et al., 2005). Данные проблемы для населенных пунктов с населением менее 50 тыс. человек и не имеющих крупного промышленного производства практически не изучены.

Важную информацию о состоянии почв в условиях антропогенного воздействия, о протекании биохимических процессов в почве, о состоянии почвенных микробных сообществ, почвенном плодородии дают показатели ферментативной активности почв и численности микроорганизмов определенных физиологических групп (Казеев и др., 2003; Utobo, Tewaḡi, 2015).

Целью настоящей работы явилась биодиагностика почвы населенного пункта Низкого Заволжья с невысоким техногенным прессингом (на примере поселка городского типа (п.г.т.) Степное Саратовской области) на основе оценки активности индикаторных почвенных ферментов и численности микроорганизмов. По классификации В. А. Алексеенко, А. В. Алексеенко (2013) исследованная территория относится к группе ландшафтов небольших поселков, станиц, деревень и хуторов. Они представляют собой переход от сельскохозяйственных, степных и лесных ландшафтов к городским ландшафтам населенных пунктов. В ходе работы в 30-почвенных пробах оценивали биохимические показатели: активность почвенных ферментов (дегидрогеназ, каталаз, пероксидаз и инвертаз) и микробиологические показатели: общую численность гетеротрофных микроорганизмов (ОЧГМ), количество углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ) и железокисляющих микроорганизмов (FeОМ). Для характеристики степени антропогенного воздействия на почву в ней определяли содержание подвижных форм меди, цинка, свинца, кадмия, хрома и никеля, рассчитывали суммарный коэффициент загрязненности почвы ( $Z_c$ ).

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования явились почвенные пробы, отобранные на территории п.г.т. Степное площадью 8 км<sup>2</sup> и с населением 14,5 тыс. человек. Схема отбора проб представлена на рис. 1. Поселок расположен в Низком Заволжье, в пределах Сыртовой равнины, относящейся к Восточно-Европейской равнине, в долине р. Большой Караман. Рельеф – полого-увалистый. Почвы – каштановые солонцеватые и солончаковые. Степное является развитым и благополучным поселком. Специализация сельского хозяйства зерноживотноводческого направления. Основное направление экономики – нефтегазодобыча. В 10 км на северо-восток от п.г.т. Степное находится крупнейшее в Европе подземное хранилище природного газа (ПХГ) с общим объемом 8 млн м<sup>3</sup>: Степновское ПХГ – филиал ООО «Газпром ПХГ».



лаз (АК) в почве измеряли с помощью титриметрического метода (Хазиев, 2005), основанного на измерении скорости распада перекиси водорода при взаимодействии ее с почвой по количеству неразложившейся перекиси, определяемой перманганатометрическим титрованием. Активность пероксидаз (АП) в почве измеряли с помощью фотометрического метода Л. А. Карягиной и Н. А. Михайловой (Хазиев, 2005), основанного на способности катализировать окисление гидрохинона в присутствии кислорода перекиси в 1.4-бензохинон, окрашенный в желтый цвет. Активность инвертаз (АИ) в почве определяли колориметрическим методом: субстрат – 5%-ный раствор сахарозы, время инкубации – 3 ч, температура инкубации – 30°C, восстанавливающие сахара в фильтрате выявляли с помощью 0.2%-ного щелочного раствора феррицианида, их содержание рассчитывали по стандартной шкале, составленной на глюкозу (Хазиев, 2005; Shi et al., 2008).

Все данные по численности микроорганизмов и по ферментативной активности почв были пересчитаны на воздушно-сухие образцы.

Определение ТМ в почве проводили методом атомно-абсорбционной спектроскопии с пламенной атомизацией на спектрофотометре «Квант-2АТ» (ООО «КОРТЭК», Россия). Подвижные кислоторастворимые формы металлов (Cu, Zn, Ni, Cd, Pb) определяли в вытяжках 1 М HNO<sub>3</sub> (Методические указания..., 1992).

Для оценки степени геохимической трансформации почвенного покрова подвижными формами ТМ определяли суммарный коэффициент загрязненности  $Z_c$  по формуле

$$Z_c = \sum K_{o_i} - (n-1),$$

где  $Z_c$  – суммарный коэффициент загрязненности ТМ в пробе;  $n$  – количество определяемых элементов;  $K_o$  – коэффициенты опасности определяемых в пробе ТМ. При расчете  $Z_c$  использовали превышение над ПДК ( $K_o$ ).

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с применением пакета прикладных программ Microsoft Excel 2010 (для Windows XP). Достоверными считали различия при вероятности ошибки  $p \leq 0.05$  (95% доверительный интервал). Взаимосвязи между микробиологическими, биохимическими и химическими показателями почвы оценивались с использованием коэффициентов корреляции Пирсона.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что общая численность гетеротрофных микроорганизмов является надежным чувствительным мониторинговым показателем при оценке экологического состояния почв (Sumampouw, Risjani, 2014).

Доказано, что различные загрязнители по-разному влияют на почвенную микрофлору. В настоящее время накоплены сведения, свидетельствующие о неоднозначном влиянии ТМ на почвенную микробиоту: от ингибирования и блокирования отдельных процессов метаболизма бактерий (Галиулин, Галиулина, 2006; Сорокин и др., 2009; Кудряшов, 2010) до стимуляции развития олигонитрофильных, споровых и денитрифицирующих бактерий и микроскопических грибов в загрязненных ТМ почвах (Евдокимова, Мозгова, 2000; Franzaring et al., 2006). По данным

авторов (Мынбаева и др., 2013), в урбаноземах с ТМ наблюдается повышенное содержание аммонифицирующих бактерий, актиномицетов и мицелиальных микроорганизмов и пониженное содержание бактерий-иммобилизаторов азота. Установлено, что низкие концентрации ТМ в почве могут стимулировать рост микроорганизмов и увеличивать микробную биомассу, в то время как высокие концентрации могут способствовать уменьшению микробной биомассы (Fliepbach et al., 1994). Также показано, что комплексное загрязнение различными ТМ всегда оказывает более заметный эффект, чем загрязнение одним из ТМ (Su et al., 2014).

Известно, что железоокисляющие микроорганизмы осуществляют распад соединений железа и железоорганических комплексов (Sabrina et al., 2011), которые могут являться следствием техногенного загрязнения почвы, в том числе ТМ. Результаты проведенных ранее экспериментов (Плешакова и др., 2016) показали, что для оценки загрязненных тяжелыми металлами почв индикаторными микроорганизмами являются железоокисляющие бактерии. Поэтому показатель численности FeOM был выбран нами для мониторингового микробиологического анализа почвы п.г.т. Степное.

К числу широко распространенных и опасных загрязнителей почвы наряду с ТМ относятся нефтяные углеводороды. Загрязнение почв УВ приводит к ухудшению их агрохимических и агрофизических характеристик (Лапина и др., 2007), повышению фитотоксичности почв. Общеизвестно, что УВ в значительной мере негативно воздействуют на функционирование почвенных биоценозов (Gennadiev et al., 2015). Происходят качественные и количественные изменения почвенной микрофлоры, как на популяционном уровне, так и на уровне микробной клетки (Guo et al., 2012; Murata et al., 2005). Нередко почва подвергается воздействию смешанного загрязнения, так, ТМ обнаружены в нефти и ее производных, они являются сопутствующими загрязнителями нефтешламов.

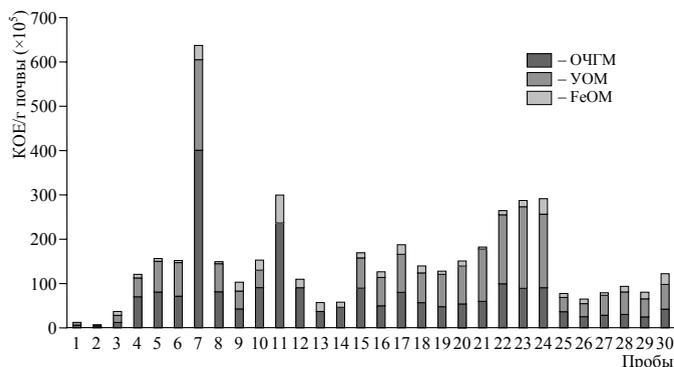
В то же время способность трансформировать УВ в безвредные соединения естественным путем присуща разнообразным представителям микромира, которые относят к физиологической группе углеводородокисляющих микроорганизмов (Wilkinson et al., 2002). При наличии в почве свежего углеводородного загрязнения содержание УОМ, как правило, увеличивается (Панов и др., 2013). В связи с вышесказанным мы оценили также численность УОМ в пробах почвы п.г.т. Степное.

В большинстве исследованных проб почвы п.г.т. Степное ОЧГМ находилась в пределах от 24.8 до  $99.4 \times 10^5$  КОЕ/г почвы (рис. 2). Численность железоокисляющих микроорганизмов составляла от 4.6 до  $34.7 \times 10^5$  КОЕ/г почвы. Между ОЧГМ и численностью FeOM был выявлен достоверный коэффициент прямой корреляции  $r = 0.63$  ( $p < 0.01$ ) (табл. 1). Количество УОМ в 18 пробах находилось в диапазоне от 29.5 до  $86.0 \times 10^5$  КОЕ/г почвы (см. рис. 2). Эти показатели численности бактерий соответствовали нормальным показателям для каштановых солонцеватых и солончаковых почв.

В трех пробах (№ 1, 2 и 3), которые были отобраны на границе исследованной территории, ОЧГМ и численность УОМ была ниже, составляя от 4.3 до  $12.4 \times 10^5$  и от 2.7 до  $15.8 \times 10^5$  КОЕ/г почвы соответственно. В пробах № 1 и 2 низким было также количество FeOM ( $0.04$  и  $0.01 \times 10^5$  КОЕ/г почвы). Эти пробы по результатам

проведенных анализов характеризовались максимально высокими значениями суммарного коэффициента загрязненности.

Отклонения от нормальных значений наблюдались еще в ряде образцов. Так, пониженными значениями численности УОМ отличались пробы № 11, 12, 13 и 14.



**Рис. 2.** Численность микроорганизмов в почве на территории п.г.т. Степное, Саратовская область

Напротив, в пробе № 7 обнаруживалось высокое содержание гетеротрофных, углеводород- и железooksисляющих микроорганизмов, в пробе № 11 – высокая ОЧГМ и численность FeОМ. Такое повышенное количество всех индикаторных микроорганизмов может быть связано с особенностями загрязнителей и уровнем

загрязнения почвы в данных точках отбора, находящихся в центральной части поселка. Выявлено повышенное содержание УОМ еще в четырех почвенных пробах (№ 21, 22, 23 и 24), которое может указывать на свежее углеводородное загрязнение (Панов и др., 2013).

**Таблица 1**

Корреляция между химическими, микробиологическими и биохимическими показателями почвы

Показатели	$C_{Cr}$	$C_{Ni}$	$C_{Pb}$	$C_{Zn}$	$C_{Cd}$	$C_{Cu}$	$Z_c$	каппа	ОЧГМ	УОМ	FeОМ	АД	АК	АП	АИ
$C_{Cr}$	1	0.89*	0.92*	0.91*	0.56	0.94*	0.98*	-0.28	-0.24	-0.26	-0.41	0.66*	0.19	-0.28	0.43
$C_{Ni}$		1	0.75*	0.83*	0.82*	0.76*	0.93*	-0.40	-0.14	0.02	-0.35	0.67*	0.29	-0.26	0.57*
$C_{Pb}$			1	0.84*	0.46	0.96*	0.93*	-0.19	-0.27	-0.38	-0.36	0.45	0.02	-0.23	0.23
$C_{Zn}$				1	0.56	0.86*	0.92*	-0.33	0.02	-0.12	-0.30	0.64*	0.18	-0.27	0.46
$C_{Cd}$					1	0.43	0.65*	-0.35	-0.01	0.37	-0.27	0.54	0.20	-0.18	0.54
$C_{Cu}$						1	0.95*	-0.20	-0.24	-0.36	-0.36	0.46	0.07	-0.30	0.32
$Z_c$							1	-0.32	-0.19	-0.20	-0.04	0.62*	0.18	-0.29	0.46
каппа								1	-0.21	0.01	-0.20	-0.46	-0.48	0.01	-0.46
ОЧГМ									1	0.50	0.63*	0.10	0.08	-0.19	0.07
УОМ										1	-0.02	0.10	-0.05	-0.20	0.36
FeОМ											1	-0.27	0.26	-0.01	-0.27
АД												1	0.43	-0.21	0.46
АК													1	0.07	0.22
АП														1	-0.16
АИ															1

*Примечание.* \*Достоверные значения коэффициента корреляции при уровне достоверности  $p < 0.01$ . ОЧГМ – общая численность гетеротрофных микроорганизмов, УОМ – углеводородокисляющие микроорганизмы, FeОМ – железooksисляющие микроорганизмы, АД – активность дегидрогеназ, АК – активность каталаз, АП – активность пероксидаз, АИ – активность инвертаз.

Рассмотрение геохимических особенностей нахождения подвижных форм ТМ в почве п.г.т. Степное показало, что в пределах исследованной территории наблюдалось превышение ПДК подвижных форм для следующих элементов – никель, медь и свинец. В целом значения суммарного коэффициента загрязнения не превышали 16 единиц, что позволяло отнести все 30 исследованных проб к категории с допустимым загрязнением.

Между количеством бактерий исследованных физиологических групп и концентрацией ТМ в почве поселка нами не обнаружено сильных корреляционных связей (см. табл. 1). Поэтому выявленные измененные показатели содержания микроорганизмов в почве п.г.т., преимущественно показатели УОМ, скорее всего, связаны с углеводородным загрязнением, обусловленным локальными источниками антропогенного воздействия или особенностями эксплуатации крупнейшего хранилища природного газа, расположенного вблизи п.г.т.

Можно отметить положительный коэффициент корреляции ( $r = 0.37, p < 0.01$ ) между численностью УОМ и концентрацией кадмия (см. табл. 1). Известно, что кадмий нередко содержится в нефтепродуктах, поэтому, даже если из загрязненной почвы с течением времени удаляются летучие углеводороды или углеводороды подвергаются биодegradации, то кадмий, аккумулируясь в почве, может продолжать оказывать воздействие на почвенный биоценоз.

Признано, что ни один биологический процесс в почве не совершается без участия широко распространенных у почвенных микроорганизмов ферментов дегидрогеназ, катализирующих реакции дегидрирования органических веществ и выполняющих функцию промежуточных переносчиков водорода (Киреева и др., 2002). Эти ферменты характеризуют общую метаболическую активность почвенной микрофлоры, они действуют, находясь в живых микробных клетках, не аккумулируясь в почве (Das, Varma, 2011). Во многих работах показано, что ТМ и УВ, попадающие в почву в результате широкой антропогенной деятельности, ингибируют активность почвенных дегидрогеназ (Wyszkowska, Wyszkowski, 2003; Murata et al., 2005; Tuomela et al., 2005; Ofoegbu et al., 2013).

Учитывая важную роль почвенных дегидрогеназ в различных биологических процессах и их чувствительность к действию загрязнителей, мы изучили активность дегидрогеназ в образцах почвы п.г.т. Степное. Активность дегидрогеназ в исследованных нами пробах почвы составляла от 1.01 до 2.36 мг ТФФ/10 г почвы за сутки (табл. 2). В трех пробах (№ 18, 25 и 30) активность была  $< 1.0$  мг ТФФ/10 г почвы за сутки. Такие низкие показатели АД указывали на бедный и очень бедный уровень обогащенности почвы данными ферментами (Звягинцев, 1978), что могло свидетельствовать о ингибирующем воздействии экотоксикантов на дегидрогеназы в почве поселка городского типа.

Активность дегидрогеназ достоверно коррелировала с концентрацией ряда тяжелых металлов в почве, обнаружен положительный коэффициент корреляции между АД и концентрацией Ni ( $r = 0.67, p < 0.01$ ), Cr ( $r = 0.66, p < 0.01$ ), Zn ( $r = 0.64, p < 0.01$ ) и суммарным коэффициентом загрязненности  $Z_c$  ( $r = 0.62, p < 0.01$ ) (см. табл. 1). На основании выявленных зависимостей можно предположить, что ингибирующее действие на дегидрогеназы оказывали не ТМ, а, скорее всего, ток-

сиканты углеводородной природы. Известно, что к причинам снижения АД относятся: ухудшение взаимодействия ферментов с субстратом из-за обволакивания почвенных частиц нефтяными углеводородами, прямое ингибирование ферментов окисленными продуктами некоторых УВ, ароматическими углеводородами, ТМ, входящими в состав нефтешламов (Margesin et al., 2000 a).

**Таблица 2**

Показатели активности ферментов в почвенных пробах п.г.т. Степное

№ почвенных проб	Активность дегидрогеназ, мг ТФФ/10 г почвы за сутки	Активность каталаз, мл 0.1 н КМnO <sub>4</sub> /ч	Активность пероксидаз, мг 1.4-бензохинона/г почвы за 30 мин при 30°C	Активность инвертаз, мг глюкозы/г почвы за сутки
1	1.55±0.37**	14.75±0.49****	0.45±0.04****	10.7±0.4**
2	1.49±0.24**	14.55±1.20****	0.43±0.02****	10.4±0.1**
3	1.36±0.01**	14.30±0.49****	0.32±0.02***	7.3±0.2**
4	2.06±0.11**	21.60±0.07****	0.42±0.03****	6.7±0.2**
5	2.36±0.11**	17.00±1.13****	0.38±0.01***	5.3±0.1**
6	1.62±0.35**	16.85±0.71****	0.43±0.02****	10.1±0.4**
7	1.52±0.30**	12.10±2.00****	0.41±0.03****	9.6±0.4**
8	1.51±0.25**	12.30±0.21****	0.37±0.01***	8.3±0.5**
9	1.42±0.08**	23.05±0.71****	0.52±0.01****	5.1±0.5**
10	1.32±0.07**	22.80±0.99****	0.42±0.03****	2.9±0.3*
11	1.00±0.25**	17.60±1.20****	0.37±0.01***	2.0±0.1*
12	1.19±0.35**	15.80±1.98****	0.42±0.04****	2.7±0.1*
13	1.34±0.09**	17.55±0.84****	0.48±0.02****	3.1±0.3*
14	1.21±0.08**	12.75±1.20****	0.33±0.02****	2.1±0.1*
15	1.10±0.01**	7.45±0.28****	0.43±0.05****	1.5±0.1*
16	1.10±0.31**	3.90±0.71***	0.39±0.05***	4.0±0.2*
17	1.01±0.18**	12.45±1.34****	0.46±0.01****	2.8±0.2*
18	0.98±0.01*	12.45±1.06****	0.50±0.06****	2.7±0.1*
19	1.31±0.05**	7.90±0.85****	0.38±0.01***	3.0±0.1*
20	1.05±0.15**	7.95±2.12****	0.42±0.01****	3.5±0.2*
21	1.10±0.02**	16.10±0.71****	0.40±0.03****	7.2±0.5**
22	1.50±0.03**	15.55±0.28****	0.34±0.01***	5.4±0.1**
23	1.21±0.07**	15.85±0.71****	0.38±0.03****	8.5±0.8**
24	1.48±0.28**	19.40±0.42****	0.37±0.01***	11.0±0.2**
25	0.99±0.08*	10.65±0.78****	0.43±0.02****	4.8±0.1*
26	1.18±0.34**	14.15±1.13****	0.45±0.01****	4.3±0.1*
27	1.07±0.15**	10.70±0.64****	0.38±0.03****	6.4±0.1**
28	1.10±0.18**	8.55±0.92****	0.49±0.03****	4.5±0.1*
29	1.16±0.03**	12.10±0.85****	0.47±0.02****	5.9±0.3**
30	0.82±0.01*	15.35±1.34****	0.45±0.01****	3.2±0.1*

*Примечание.* Почва по степени обогащенности ферментами: \* – очень бедная; \*\* – бедная; \*\*\* – средняя; \*\*\*\* – богатая. Стандартное отклонение рассчитано с вероятностью 95% (n = 3).

Не менее важными почвенными ферментами из класса оксидоредуктаз являются каталазы, которые осуществляют распад различных перекисей и в определенных условиях играют существенную роль в кислородном балансе почвы (Maila, Cloete, 2005). Каталаза – внутриклеточный фермент, найденный у всех аэробных

бактерий и некоторых факультативных анаэробов. Активность каталазы в почвах считают индикатором активности аэробных микроорганизмов, она связана и с численностью аэробных микроорганизмов, и почвенным плодородием (García, Hernández, 1997). Высокоактивный кислород, образующийся при участии каталаз, обеспечивает доступным кислородом микроорганизмы, участвующие в процессах трансформации различных ксенобиотиков (Исмаилов, 1988). Активность каталаз является информативным показателем, характеризующим биологическую активность почвы в условиях углеводородного загрязнения (Maila, Cloete, 2005).

Каталазы, как и дегидрогеназы, могут ингибироваться ТМ (Tuomela et al., 2005; Shi et al., 2008; Hassan et al., 2013). Так, авторы поясняют: каталаза – металлофермент, и присутствие ТМ, таких как никель и медь, ингибирует ее активность (Kızılkaya et al., 2004). По мнению исследователей (Shuqing et al., 2007), активность каталазы можно рассматривать как биохимический показатель, отражающий степень загрязнения почвы свинцом и кадмием.

Нами установлено (см. табл. 2), что в 5 пробах почвы п.г.т. Степное (№ 15, 16, 19, 20, 28) наблюдалась средняя степень обогащенности каталазами (3.90 – 8.55 мл 0.1 н  $\text{KMnO}_4/\text{ч}$ ), остальные 25 изученных проб согласно шкале Д. Г. Звягинцева (1978) отнесены к богатой почве (10.65 – 23.05 мл 0.1 н  $\text{KMnO}_4/\text{ч}$ ). Таким образом, в отличие от дегидрогеназ, которые, как известно, могут непосредственно ингибироваться УВ и продуктами их деградации, находящимися в почве в течение длительного времени (Margesin et al., 2000 *b*; Sumampouw, Risjani, 2014; Utobo, Tewari, 2015), каталазы в почве п.г.т. Степное не подвергались токсическому воздействию ТМ и свежего углеводородного загрязнения.

В отличие от дегидрогеназ и каталаз, почвенные пероксидазы имеют преимущественно растительное происхождение. Авторами (Квеситадзе и др., 2005; Gianfreda et al., 2006; Muratova et al., 2009) показано, что растения выделяют в почву вместе с корневыми экссудатами ферменты в зависимости от почвы, состава ризосферных микроорганизмов, вегетационных процессов растений и других факторов, в том числе ферменты пероксидазы. Пероксидазы осуществляют окисление органических веществ почв (фенолов, аминов, некоторых гетероциклических соединений) за счет кислорода перекиси водорода и других органических перекисей, образующихся в почве в результате жизнедеятельности микроорганизмов и действия некоторых оксидов. Известно, что пероксидазы участвуют в окислении некоторых компонентов нефтяного загрязнения – соединений фенолов до хинонов и дальнейшей их конденсации в молекуле гумусовых веществ (Floch et al., 2007). Имеются сведения об ингибировании пероксидаз под действием ТМ (Ofogebu et al., 2013) и нефтяных УВ (Margesin et al., 2000 *b*). Низкие концентрации нефти первоначально стимулируют активность этих ферментов за счет фенольных соединений, а средние и высокие дозы нефти оказывают ингибирующее действие. Известно также, что пероксидазы – индуцибельные ферменты, и контакт корней растения с поллютантами типа ПАУ индуцирует пероксидазную активность, которая может иметь внутриклеточную функцию как часть защитного механизма и/или непосредственно влиять на деградацию ароматических соединений в окружающей среде (Kraus et al., 1999).

Результаты исследования активности пероксидаз в почве п.г.т. Степное (см. табл. 2) показали, что в 12 пробах (№ 3, 5, 8, 11, 14, 16, 19, 21 – 24, 27) наблюдалась средняя степень обогащенности пероксидазами (0.33 – 0.39 мг 1.4-бензохинона/г почвы за 30 мин при 30°C), а 18 проб (№ 1, 2, 4, 6, 7, 9, 10, 12, 13, 15, 17, 18, 20, 25, 26, 28 – 30) отнесены к богатой почве (0.40 – 0.52 мг 1.4-бензохинона/г почвы за 30 мин при 30°C). Активность пероксидаз, как и каталаз в почве п.г.т. Степное, таким образом, свидетельствовала о здоровом состоянии почвы. Сильных корреляционных связей между активностью каталаз, пероксидаз и другими исследованными биохимическими, микробиологическими и геохимическими показателями почвы обнаружено не было (см. табл. 1).

Нами также исследовалась активность важных гидролитических почвенных ферментов – инвертаз ( $\beta$ -фруктофуранозидаз). В почве инвертазы гидролизуют гликозильные соединения: сахарозу, рафинозу, генцианозу и стахиозу, катализируют фруктотрансферазные реакции, определяя уровень плодородия и биологической активности почвы (Shi et al., 2008). Кроме того, инвертазы отличаются высокой чувствительностью к воздействию негативных факторов. Показано снижение активности гидролитических ферментов в почве, загрязненной промышленными выбросами металлургических производств (Rylova, Stepus, 2005), которое, по мнению исследователей, может быть связано как с подавлением биохимической активности микроорганизмов, так и с уменьшением их количественного и качественного состава. В то же время, по мнению других ученых (Shuqing et al., 2007), особенностью инвертаз является их значительная устойчивость к загрязнению ТМ, которая связана с тем, что инвертаза относится к гидролитическим ферментам, в то время как ТМ, проявляя переменную валентность, в большей степени изменяют активность окислительно-восстановительных ферментов.

По показателям активности инвертаз исследованные почвенные пробы п.г.т. Степное характеризовались очень бедным и бедным уровнем обогащенности инвертазами по шкале Д. Г. Звягинцева (1978) (см. табл. 2). АИ в ряде проб была  $< 5.0$  мг глюкозы/г почвы за сутки (№ 10 – 20, 25, 26, 28 и 30), в остальных пробах находилась в диапазоне от 5.0 до 11.0 мг глюкозы/г почвы за сутки. Достоверная положительная корреляция выявлена между АИ и концентрацией Ni ( $r = 0.57$ ,  $p < 0.01$ ). Низкие показатели активности инвертаз, как и дегидрогеназ, указывали на возможное действие загрязнителей почвы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе был реализован комплексный научно-методологический подход для получения информации об экологическом состоянии почвенного покрова п.г.т. Степное, который характеризуется отсутствием масштабного промышленного производства, небольшой численностью населения, но вблизи которого находится крупное ПХГ. Изучены микробиологические и биохимические показатели почвы как критерии степени нарушения ее экологических функций.

Микробиологический анализ почвы п.г.т. Степное выявил флуктуации показателей количества индикаторных микроорганизмов. Три пробы (№ 1, 2 и 3) отличались пониженным содержанием почвенных микроорганизмов исследованных

физиологических групп, эти пробы также характеризовались высокими значениями суммарного коэффициента загрязненности. В одной из проб (№ 7) наблюдалось повышенное содержание микроорганизмов всех исследованных групп, а в пробе № 11 – максимальная численность железоокисляющих бактерий и высокие значения ОЧГМ. Наиболее заметные вариации наблюдались при учете численности УОМ, при этом они были приурочены к определенным районам. Так, в пробах № 11 – 14 отмечалось пониженное содержание УОМ, в пробах № 21 – 24 – повышенное.

Обнаруженные колебания значений исследованных параметров могут свидетельствовать о воздействии на почву в ряде мест специфических загрязнителей. Нами не установлено сильных корреляционных связей между количеством бактерий исследованных физиологических групп и концентрацией ТМ в почве п.г.т. Этот факт, а также тот, что наиболее вариабельными оказались показатели УОМ, предполагает загрязнение почвы углеводородами, скорее всего, от локальных источников.

Анализ биохимических показателей почвы данного населенного пункта также указывал на возможные функциональные нарушения почвенных процессов. Бедный и очень бедный уровень обогащенности почвы дегидрогеназами и инвертазами в большинстве почвенных образцов может быть связан с антропогенным воздействием. В то же время активность почвенных каталаз и пероксидаз соответствовала среднему и высокому уровню содержания ферментов, что свидетельствовало об отсутствии патологических изменений в почве.

Итак, эколого-геохимический анализ показал, что все 30 исследованных проб относятся к категории почв с допустимым загрязнением. Напротив, результаты микробиологического и ферментативного анализа почвы п.г.т. Степное продемонстрировали, что в почве наблюдается определенная трансформация отдельных компонентов, связанная, вероятно, с воздействием ксенобиотиков на данной территории. Полученные результаты позволяют сделать заключение, что изученные нами микробиологические и биохимические показатели являются более чувствительными к загрязнению показателями экологического состояния почвенного покрова, чем геохимические. А также являются перспективными показателями для биодиагностики почвенного здоровья на территории с низким антропогенным воздействием.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 17-77-10040).*

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алексеевко В. А., Алексеевко А. В.* Химические элементы в геохимических системах. Кларки почв селитебных ландшафтов. Ростов н/Д : Изд-во Юж. Федер. ун-та, 2013. 380 с.
- Галиулин Р. В., Галиулина Р. А.* Ферментативная индикация загрязнения почв тяжелыми металлами // *Агрохимия*. 2006. № 11. С. 84 – 95.
- ГОСТ 17.4.4.02-84. Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа : Межгосударственные стандарты. М. : Стандартинформ, 2008. 8 с.

- Евдокимова Г. А., Мозгова Н. Р.* Влияние выбросов предприятия цветной металлургии на почву в условиях модельного опыта // Почвоведение. 2000. № 5. С. 630 – 638.
- Звягинцев Д. Г.* Биологическая активность почв и шкалы для оценки некоторых её показателей // Почвоведение. 1978. № 6. С. 48 – 54.
- Иванов Д. В.* Тяжелые металлы в почвах Республики Татарстан // Рос. журн. прикл. экологии. 2015. № 4. С. 53 – 60.
- Исмаилов Н. М.* Микробиологическая и ферментативная активность нефтезагрязненных почв // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем : сб. науч. тр. / под ред. М. А. Глазвской. М. : Наука, 1988. С. 42 – 56.
- Казеев К. Ш., Колесников С. И., Вальков В. Ф.* Биологическая диагностика и индикация почв : методология и методы исследований. Ростов н/Д : Изд-во Рост. гос. ун-та, 2003. 204 с.
- Квеситадзе Г. И., Хатисаишвили Г. А., Садунишвили Т. А., Евстигнеева З. Г.* Метаболизм антропогенных токсикантов в высших растениях. М. : Наука, 2005. 199 с.
- Киреева Н. А., Новоселова Е. И., Онегова Т. С.* Активность каталазы и дегидрогеназы в почвах, загрязненных нефтью и нефтепродуктами // Агрехимия. 2002. № 8. С. 64 – 72.
- Кудряшов С. В.* Оценка и нормирование экологического состояния почв норильского промышленного района : автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2010. 17 с.
- Лапина Г. П., Чернавская Н. М., Литвиновский М. Е., Сазанова С. В.* Физико-химические характеристики загрязнения окружающей среды при техногенных катастрофах (разлив нефти) // Химическая и биологическая безопасность. 2007. № 1 (31). С. 24 – 32.
- Методические указания по определению тяжелых металлов в почвах сельхозугодий и продукции растениеводства. М. : ЦИНАО, 1992. 62 с.
- Мынбаева Б. Н., Сейлова Л. Б., Воронова Н. В., Муздыбаева К. К., Амирашева Б. А., Иманбекова Т. Г.* Микробиологическая индикация почв г. Алматы, загрязненных тяжелыми металлами // Докл. по экологическому почвоведению. 2013. № 1. С. 176 – 184.
- Панов А. В., Есикова Т. З., Соколов С. Л., Кошелева И. А., Боронин А. М.* Влияние загрязнения почвы на состав микробного сообщества // Микробиология. 2013. Т. 82, № 2. С. 239 – 246. DOI: 10.7868/S0026365613010114
- Плешакова Е. В., Решетников М. В., Нгун К. Т., Шувалова Е. П.* Микробиологическая и биохимическая индикация почв города Медногорска // Агрехимия. 2016. № 1. С. 66 – 73.
- Практикум по микробиологии / под ред. А. И. Нетрусова. М. : Академия, 2005. 608 с.
- Регионы и города России : интегральная оценка экологического состояния / под ред. Н. С. Касимова. М. : Молодая гвардия, 2015. 661 с.
- Смагин А. В., Шоба С. А., Макаров О. А.* Экологическая оценка почвенных ресурсов и технологий их воспроизводства (на примере г. Москвы). М. : Изд-во Моск. ун-та, 2008. 360 с.
- Сорокин Н. Д., Гродницкая И. Д., Шапченкова О. А., Евграфова С. Ю.* Экспериментальная оценка устойчивости почвенного микробсообщества при химическом загрязнении // Почвоведение. 2009. № 6. С. 701 – 707.
- Хазиев Ф. Х.* Методы почвенной энзимологии. М. : Наука, 2005. 252 с.
- Das S. K., Varma A.* Role of enzymes in maintaining soil health // Soil Enzymology (Soil Biology 22) / eds. G. Shukla, A. Varma. Berlin ; Heidelberg : Springer-Verlag, 2011. P. 25 – 41. DOI: 10.1007/978-3-642-14225-3\_2
- Fliepbach A., Martens R., Reber H.* Soil microbial biomass and activity in soils treated with heavy metal contaminated sewage sludge // Soil Biology and Biochemistry. 1994. Vol. 26. P. 1201 – 1205.
- Floch C., Alarcon-Gutierrez E., Criquet S.* ABTS assay of phenol oxidase activity in soil // J. of Microbiological Methods. 2007. Vol. 71. P. 319 – 324.

## БИОДИАГНОСТИКА ПОЧВЫ С НЕВЫСОКИМ УРОВНЕМ

*Foght J., Aislabie J.* Enumeration of soil microorganisms // Manual for soil analysis – monitoring and assessing soil bioremediation / eds. R. Margesin, F. Schinner. Berlin ; Heidelberg : Springer-Verlag, 2005. P. 261 – 280.

*Franzaring J., Hrenn H., Schumm C., Klumpp A., Fangmeier A.* Environmental monitoring of fluoride emission using precipitation, dust, plant and soil samples // Environmental Pollution. 2006. Vol. 1. P. 158 – 165.

*García C., Hernández T.* Biological and biochemical indicators in derelict soils subjected to erosion // Soil Biology and Biochemistry. 1997. Vol. 29. P. 171 – 177.

*Gennadiev A. N., Pikovskii Yu. I., Tsibart A. S., Smirnova M. A.* Hydrocarbons in soils: origin, composition, and behavior (Review) // Eurasian Soil Science. 2015. Vol. 48, № 10. P. 1076 – 1089. DOI: 10.1134/S1064229315100026

*Gianfreda L., Mora M. L., Diez M. C.* Restoration of polluted soils by means of microbial and enzymatic processes // Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal. 2006. Vol. 6, № 1. P. 20 – 40.

*Granina L. Z., Parfenova V. V., Zemskaya T. I., Zakharova Yu. R., Golobokova L. P.* On iron and manganese oxidizing microorganisms in sedimentary redox cycling in lake Baikal // Berliner Palaobiologische Abhandlungen. 2003. Vol. 4. P. 121 – 128.

*Guo H., Yao J., Cai M., Qian Y., Guo Y., Richnow H. H., Blake R. E., Doni S., Ceccanti B.* Effects of petroleum contamination on soil microbial numbers, metabolic activity and urease activity // Chemosphere. 2012. Vol. 87. P. 1273 – 1280. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2012.01.034

*Hassan W., Akmal M., Muhammad I., Younas M., Zahaid K. R., Ali F.* Response of soil microbial biomass and enzymes activity to cadmium (Cd) toxicity under different soil textures and incubation times // Australian J. of Crop Science. 2013. Vol. 7, № 5. P. 674 – 680.

*Kızılkaya R., Aşkın T., Bayraklı B., Sağlam M.* Microbiological characteristics of soils contaminated with heavy metals // European J. of Soil Biology. 2004. Vol. 40, № 2. P. 95 – 102. DOI: 10.1016/j.ejsobi.2004.10.002

*Kraus J. J., Munir I. Z., McEldoon J. P., Clark D. S., Dordick J. S.* Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons catalyzed by soybean peroxidase // Applied Biochemistry and Biotechnology. 1999. Vol. 80, № 3. P. 221 – 230.

*Maila M. P., Cloete T. E.* The use of biological activities to monitor the removal of fuel contaminants – perspective for monitoring hydrocarbon contamination : a review // International Biodegradation and Biodegradation. 2005. Vol. 55. P. 1 – 8. DOI: 10.1016/j.ibiod.2004.10.003

*Margesin R., Zimmerbauer A., Schinner F.* Monitoring of bioremediation by soil biological activities // Chemosphere. 2000 a. Vol. 40, № 4. P. 339 – 346.

*Margesin R., Walder G., Schinner F.* The impact of hydrocarbon remediation (diesel oil and polycyclic aromatic hydrocarbons) on enzyme activities and microbial properties of soil // Acta Biotechnologica. 2000 b. Vol. 20. P. 313 – 333.

*Mills A., Breuil C., Colwell R. R.* Enumeration of petroleum degrading marine and estuarine microorganisms by the most probable number method // Canadian J. of Microbiology. 1978. Vol. 24. P. 552 – 557.

*Murata T., Kanao-Koshikawa M., Takamatsu T.* Effects of Pb, Cu, Sb, Zn and Ag contamination on the proliferation of soil bacterial colonies, soil dehydrogenase activity, and phospholipid fatty acid profiles of soil microbial communities // Water, Air, and Soil Pollution. 2005. Vol. 164. P. 103 – 118.

*Muratova A., Pozdnyakova N., Golubev S., Wittenmayer L., Makarov O., Merbach W., Turkovskaya O.* Oxidoreductase activity of sorghum root exudates in a phenanthrene-contaminated environment // Chemosphere. 2009. Vol. 74. P. 1031 – 1036

*Ofoegbu C. J., Akubugwo E. I., Dike C. C., Maduka H. C. C., Ugwu C. E., Obasi N. A.* Effects of heavy metals on soil enzymatic activities in the Ishiagu mining area of Ebonyi State-

Nigeria // J. of Environmental Science, Toxicology and Food Technology. 2013. Vol. 5, № 6. P. 66 – 71.

*Ohlinger R.* Dehydrogenase activity with the substrate TTC // Methods in Soil Biology / eds. F. Schinner, R. Ohlinger, E. Kandler, R. Margesin. Berlin : Springer Verlag, 1996. P. 241 – 243.

*Rylova N. G., Stepus N. F.* The change of cellulose soil activity as a result of pollution with heavy metals // Biology. 2005. Vol. 10. P. 65 – 69.

*Sabrina H., Michael S., Johnson B.* The iron-oxidizing proteobacteria // Microbiology. 2011. Vol. 157. P. 1551 – 1564.

*Salah E. A. M., Yassin K. H., Abd-Alsalaam S.* Level, distribution and pollution assessment of heavy metals in urban community garden soils in Baghdad City, Iraq // International J. of Scientific Engineering and Research. 2015. Vol. 6, № 10. P. 1646 – 1652.

*Shi Z. J., Lu Y., Xu Z. G., Fu S. L.* Enzyme activities of urban soils under different land use in the Shenzhen city, China // Plant Soil and Environment. 2008. Vol. 54, № 8. P. 341–346.

*Shuqing L., Zhixin Y., Xiaomin W., Xiaogui Z., Rutai G., Xia L.* Effects of Cd and Pb pollution on soil enzymatic activities and soil microbiota // Frontiers of Agriculture in China. 2007. Vol. 1, iss. 1. P. 85 – 89.

*Su C., Jiang L., Zhang W.* A review on heavy metal contamination in the soil worldwide : Situation, impact and remediation techniques // Environmental Skeptics and Critics. 2014. Vol. 3, iss. 2. P. 24 – 38.

*Sumampouw O. J., Risjani Y.* Bacteria as indicators of environmental pollution : Review // International J. of Ecosystems and Ecology Science. 2014. Vol. 4, № 6. P. 251 – 258. DOI: 10.5923/j.ije.20140406.03

*Tuomela M., Steffen K., Kerko E.* Influence of Pb contamination in boreal forest soil on the growth and ligninolytic activity of litter-decomposing fungi // Microbiology Ecology. 2005. Vol. 53. P. 179 – 186.

*Utobo E. B., Tewari L.* Soil enzymes as bioindicators of soil ecosystem status // Applied Ecology and Environmental Research. 015. Vol. 13, № 1. P. 147 – 169. DOI: 10.15666/aecr/1301\_147169

*Wilkinson S., Nicklin S., Faul J. L.* Biodegradation of fuel oils and lubricants : soil and water bioremediation options // Biontransformations : bioremediation technology for health and environmental protection / eds. V. P. Singh, R. D Stapleton. Elsevier Science, 2002. P. 69 – 100.

*Wyszkowska J., Wyszkowski M.* Effect of cadmium and magne-sium on enzymatic activity in soil // Polish J. of Environmental Studies. 2003. Vol. 12, № 4. P. 473 – 479.

**BIODIAGNOSIS OF SOIL WITH A LOW LEVEL  
OF ANTHROPOGENIC IMPACT**  
(with the typical Urban Settlement Stepnoe, Saratov Region, as an example)

**Yekaterina V. Pleshakova, Clement T. Ngun, and Michael V. Reshetnikov**

*Saratov State University  
83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia  
E-mail: plekat@yandex.ru*

Received 14 May 2018, revised 19 September 2018, accepted 25 September 2018

Pleshakova Ye. V., Ngun C. T., Reshetnikov M. V. Biodiagnosis of Soil with a Low Level of Anthropogenic Impact (with the typical Urban Settlement Stepnoe, Saratov Region, as an example). *Povolzhskiy Journal of Ecology*, 2018, no. 4, pp. 447–464 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1684-7318-2018-4-447-464>

With the urban-type settlement Stepnoe as an example, biodiagnosis of the soil of a settlement with low technogenic impact was conducted. In the course of our work, 30 soil samples were plated onto solid nutrition media to evaluate the following: the total numbers of heterotrophic microorganisms – on meat peptone agar, the numbers of hydrocarbon-oxidizing and iron-oxidizing microorganisms – on their corresponding selective media, and the activity of several soil redox and hydrolytic enzymes (dehydrogenases, catalases, peroxidases, and invertases) were also studied. To characterize the degree of anthropogenic impact on the soil, the content of the mobile forms of copper, zinc, lead, cadmium, chromium and nickel was evaluated and the total soil contamination coefficient ( $Z_c$ ) was calculated. Within the studied area, an excess over the MPC of the mobile forms of Ni, Cu and Pb was found. In general, the values of the total soil pollution coefficient did not exceed 16 units, indicating a favorable environmental and geochemical situation in the territory of the settlement. Analysis of the total numbers of heterotrophic microorganisms, numbers of hydrocarbon-oxidizing and iron-oxidizing microorganisms, revealed deviations from the norm in certain regions of the territory surveyed, indicating an anthropogenic transformation of the soil biocenoses. The maximum deviations were typical for the index of hydrocarbon-oxidizing microorganisms, which indicated soil contamination with hydrocarbons. Our results of evaluation of the activity of indicator soil enzymes did not exclude possible functional damages in the soil. It was found that the activity of soil dehydrogenases and invertases corresponded to low and very low levels of soil enrichment with these enzymes. At the same time, the activity of soil catalases and peroxidases corresponded to the average and high levels of these enzymes, which indicated the absence of pathological changes in the soil. It has been shown that the studied soil microbiological and biochemical parameters are promising for soil health biodiagnosis in territories with low anthropogenic impact.

*Key words:* biodiagnosis, heterotrophic microorganisms, hydrocarbon-oxidizing microorganisms, iron-oxidizing microorganisms, soil enzymes.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1684-7318-2018-4-447-464>

**Acknowledgments:** This work was supported by the Russian Scientific Foundation (project no. 17-77-10040).

## REFERENCES

Alekseenko V. A., Alekseenko A. V. *Chemical Elements in Geochemical Systems. The Elements Abundances in Urban Soils*. Rostov-on-Don, Izdatelstvo Yuzhnogo federalnogo universiteta, 2013. 380 p. (in Russian).

Galiulin R. V., Galiulina R. A. Enzymatic indication of soil contamination with heavy metals. *Agrochemistry*, 2006, no. 11, pp. 84–95 (in Russian).

*GOST 17.4.4.02-84. Okhrana prirody. Pochvy. Metody otbora i podgotovki prob dlya khimicheskogo, bakteriologicheskogo, gelmintologicheskogo analiza: Mezhgosudarstvennyye standarty* [GOST 17.4.4.02-84. Protection of Nature. The soil. Methods of sampling and sample preparation for chemical, bacteriological, helminthological analysis: Interstate standards]. Moscow, Standardinform Publ., 2008. 8 p. (in Russian).

Evdokimova G. A., Mozgova N. R. The impact of emissions from the nonferrous metallurgical plant on soil in a model experiment. *Eurasian Soil Science*, 2000, vol. 33, no. 5, pp. 552–559.

Zvyagintsev D. G. Soil biological activity and scales for evaluating some of its indicators. *Pochvovedeniye*, 1978, no. 6, pp. 48–54 (in Russian).

Ivanov D. V. Heavy metals in soils of the Republic of Tatarstan (an overview). *Russian J. of Applied Ecology*, 2015, no. 4, pp. 53–50 (in Russian).

Ismailov N. M. Microbiological and enzymatic activity of oil-polluted soils. In: M. A. Glazovskaya, ed. *Restoration of oil-polluted soil ecosystems*. Moscow, Nauka Publ., 1988, pp. 42–56 (in Russian).

Kazeev K. Sh., Kolesnikov S. I., Valkov V. F. *Biological diagnostics and indication of soils: methodology and methods of researches*. Rostov-on-Don, Izdatelstvo Rostovskogo universiteta, 2003. 204 p. (in Russian).

Kvesitadze G. I., Khatisashvili G. A., Sadunishvili T. A., Evstigneeva Z. G. Metabolizm antropogennykh toksikantov v vysshikh rasteniyakh [Metabolism of anthropogenic toxicants in higher plants]. Moscow, Nauka Publ., 2005. 199 p. (in Russian).

Kireeva N. A., Novoselova E. I., Onegova T. S. Catalase and dehydrogenase activity in soils polluted by oil and oil products. *Agrochemistry*, 2002, no. 8, pp. 64–72 (in Russian).

Kudryashov S. V. *Ocenka i normirovanie ehkologicheskogo sostoyaniya pochv Norilskogo promyshlennogo rajona* [Assessment and Regulation of the Ecological State of the Soils of the Norilsk Industrial Region]. Thesis Diss. Cand. Sci. (Biol.). Moscow, 2010. 17 p. (in Russian).

Lapina G. P., Chernavskaya N. M., Litvinovsky M. E., Sazanova S. V. Physico-chemical characteristics of environmental pollution in man-made disasters (oil spills). *Chemical and Biological Safety*, 2007, no. 1, vol. 31, pp. 24–32 (in Russian).

*Guidelines for the determination of heavy metals in soils of farmland and plant products*. Moscow, CINAО, 1992. 62 p. (in Russian).

Mynbayeva B. N., Seylova L. B., Voronova N. V., Muzdybaeva K. K., Amirasheva B.A., Imanbekova T. G. Microbiological indication of soils contaminated with heavy metals in Almaty. *Reports on Ecological Soil Science*, 2013, no. 1, pp. 176–184 (in Russian).

Panov A. V., Esikova T. Z., Sokolov S. L., Kosheleva I. A., Boronin A. M. Influence of soil pollution on the composition of a microbial community. *Microbiology*, 2013, vol. 82, no. 2, pp. 241–248. DOI: 10.7868/S0026365613010114

Pleshakova E. V., Reshetnikov M. V., Ngun K. T., Shuvalova E. P. Microbiological and biochemical indication of the soil of the city of Mednogorsk. *Agrochemistry*, 2016, no. 1, pp. 66–73 (in Russian).

*Workshop in Microbiology*. A. I. Netrusov, ed. Moscow, Akademiya Publ., 2005. 608 p. (in Russian).

*Regions and cities of Russia: an integral assessment of the ecological state*. Ed. N. S. Kasimov. Moscow, Molodaya gvardiya Publ., 2015. 661 p. (in Russian).

Smagin A. V., Shoba S. A., Makarov O. A. *Ekologicheskaya otsenka pochvennykh resursov i tekhnologii ikh vosproizvodstva (na primere g. Moskvy)* [Ecological assessment of soil resources and technologies of their reproduction (on the example of Moscow)]. Moscow, Izdatelstvo Moskovskogo universiteta, 2008. 360 p. (in Russian).

Sorokin N. D., Grodnitskaya I. D., Shapchenkova O. A., Evgrafova S. Yu. Experimental assessment of the microbocenosis stability in chemically polluted soils. *Eurasian Soil Science*, 2009, vol. 42, no. 6, pp. 650–656.

Khaziev F. Kh. *Methods of soil enzymology*. Moscow, Nauka Publ., 2005. 252 p. (in Russian).

Das S. K., Varma A. Role of enzymes in maintaining soil health. In: G. Shukla, A. Varma, eds. *Soil Enzymology (Soil Biology 22)*. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag, 2011, pp. 25–41. DOI: 10.1007/978-3-642-14225-3\_2

Fliepbach A., Martens R., Reber H. Soil microbial biomass and activity in soils treated with heavy metal contaminated sewage sludge. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, vol. 26, pp. 1201–1205.

Floch C., Alarcon-Gutierrez E., Criquet S. ABTS assay of phenol oxidase activity in soil. *J. of Microbiological Methods*, 2007, vol. 71, pp. 319–324.

Foght J., Aislabie J. Enumeration of soil microorganisms. In: R. Margesin, F. Schinner, eds. *Manual for soil analysis – monitoring and assessing soil bioremediation*. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag, 2005, pp. 261–280.

Franzarling J., Hrenn H., Schumm C., Klumpp A., Fangmeier A. Environmental monitoring of fluoride emiddion using precipitation, dust, plant and soil samples. *Environmental Pollution*, 2006, vol. 1, pp. 158–165.

García C., Hernández T. Biological and biochemical indicators in derelict soils subjected to erosion. *Soil Biology and Biochemistry*, 1997, vol. 29, pp. 171–177.

Gennadiev A. N., Pikovskii Yu. I., Tsibart A. S., Smirnova M. A. Hydrocarbons in soils: origin, composition, and behavior (Review). *Eurasian Soil Science*, 2015, vol. 48, no. 10, pp. 1076–1089. DOI: 10.1134/S1064229315100026

Gianfreda L., Mora M. L., Diez M. C. Restoration of polluted soils by means of microbial and enzymatic processes. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*, 2006, vol. 6, no. 1, pp. 20–40.

Granina L. Z., Parfenova V. V., Zemskaya T. I., Zakharova Yu. R., Golobokova L. P. On iron and manganese oxidizing microorganisms in sedimentary redox cycling in lake Baikal. *Berliner Palaobiologische Abhandlungen*, 2003, vol. 4, pp. 121–128.

Guo H., Yao J., Cai M., Qian Y., Guo Y., Richnow H. H., Blake R. E., Doni S., Ceccanti B. Effects of petroleum contamination on soil microbial numbers, metabolic activity and urease activity. *Chemosphere*, 2012, vol. 87, pp. 1273–1280. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2012.01.034

Hassan W., Akmal M., Muhammad I., Younas M., Zahaid K. R., Ali F. Response of soil microbial biomass and enzymes activity to cadmium (Cd) toxicity under different soil textures and incubation times. *Australian J. of Crop Science*, 2013, vol. 7, no. 5, pp. 674–680.

Kızılkaya R., Aşkın T., Bayraklı B., Sağlam M. Microbiological characteristics of soils contaminated with heavy metals. *European J. of Soil Biology*, 2004, vol. 40, no. 2, pp. 95–102. DOI: 10.1016/j.ejsobi.2004.10.002

Kraus J. J., Munir I. Z., McEldoon J. P., Clark D. S., Dordick J. S. Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons catalyzed by soybean peroxidase. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1999, vol. 80, no. 3, pp. 221–230.

Maila M. P., Cloete T. E. The use of biological activities to monitor the removal of fuel contaminants – perspective for monitoring hydrocarbon contamination: a review. *International Biodegradation and Biodegradation*, 2005, vol. 55, pp. 1–8. DOI:10.1016/j.ibiod.2004.10.003

Margesin R., Zimmerbauer A., Schinner F. Monitoring of bioremediation by soil biological activities. *Chemosphere*, 2000 a, vol. 40, no. 4, pp. 339–346.

Margesin R., Walder G., Schinner F. The impact of hydrocarbon remediation (diesel oil and polycyclic aromatic hydrocarbons) on enzyme activities and microbial properties of soil. *Acta Biotechnologica*, 2000 b, vol. 20, pp. 313–333.

Mills A., Breuil LuC., Colwell R. R. Enumeration of petroleum degrading marine and estuarine microorganisms by the most probable number method. *Canadian J. of Microbiology*, 1978, vol. 24, pp. 552–557.

Murata T., Kanao-Koshikawa M., Takamatsu T. Effects of Pb, Cu, Sb, Zn and Ag contamination on the proliferation of soil bacterial colonies, soil dehydrogenase activity, and phospholipid fatty acid profiles of soil microbial communities. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2005, vol. 164, pp. 103–118.

Muratova A., Pozdnyakova N., Golubev S., Wittenmayer L., Makarov O., Merbach W., Turkovskaya O. Oxidoreductase activity of sorghum root exudates in a phenanthrene-contaminated environment. *Chemosphere*, 2009, vol. 74, pp. 1031–1036.

Ofoegbu C. J., Akubugwo E. I., Dike C. C., Maduka H. C. C., Ugwu C. E., Obasi N. A. Effects of heavy metals on soil enzymatic activities in the Ishiagu mining area of Ebonyi State-Nigeria. *J. of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 2013, vol. 5, no. 6, pp. 66–71.

Öhlinger R. Dehydrogenase activity with the substrate TTC. In: F. Schinner, R. Ohlinger, E. Kandler, R. Margesin, eds. *Methods in Soil Biology*. Berlin, Springer Verlag, 1996, pp. 241–243.

Rylova N. G., Stepus N. F. The change of cellulose soil activity as a result of pollution with heavy metals. *Biology*, 2005, vol. 10, pp. 65–69.

Sabrina H., Michael S., Johnson B. The iron-oxidizing proteobacteria. *Microbiology*, 2011, vol. 157, pp. 1551–1564.

Salah E. A. M., Yassin K. H., Abd-Alsalaam S. Level, distribution and pollution assessment of heavy metals in urban community garden soils in Baghdad City, Iraq. *International J. of Scientific Engineering and Research*, 2015, vol. 6, no. 10, pp. 1646–1652.

Shi Z. J., Lu Y., Xu Z. G., Fu S. L. Enzyme activities of urban soils under different land use in the Shenzhen city, China. *Plant Soil and Environment*, 2008, vol. 54, iss. 8, pp. 341–346.

Shuqing L., Zhixin Y., Xiaomin W., Xiaogui Z., Rutai G., Xia L. Effects of Cd and Pb pollution on soil enzymatic activities and soil microbiota. *Frontiers of Agriculture in China*, 2007, vol. 1, iss. 1, pp. 85–89.

Su C., Jiang L., Zhang W. A. review on heavy metal contamination in the soil worldwide: Situation, impact and remediation techniques. *Environmental Skeptics and Critics*, 2014, vol. 3, no. 2, pp. 24–38.

Sumampouw O. J., Risjani Y. Bacteria as indicators of environmental pollution: Review. *International J. of Ecosystems and Ecology Science*, 2014, vol. 4, no. 6, pp. 251–258. DOI: 10.5923/j.ije.20140406.03

Tuomela M., Steffen K., Kerko E. Influence of Pb contamination in boreal forest soil on the growth and ligninolytic activity of litter-decomposing fungi. *Microbiology Ecology*, 2005, vol. 53, pp. 179–1862.

Utobo E. B., Tewari L. Soil enzymes as bioindicators of soil ecosystem status. *Applied Ecology and Environmental Research*, 2015, vol. 13, no. 1, pp. 147–169. DOI: 10.15666/aeer/1301\_147169

Wilkinson S., Nicklin S., Faul J. L. Biodegradation of fuel oils and lubricants: soil and water bioremediation options. In: V. P. Singh, R. D. Stapleton, eds. *Biontransformations: bioremediation technology for health and environmental protection*. Amsterdam, Elsevier Science, 2002, pp. 69–100.

Wyszkowska J., Wyszkowski M. Effect of cadmium and magne-sium on enzymatic activity in soil. *Polish J. of Environmental Studies*, 2003, vol. 12, no. 4, pp. 473–479.