

Оригинальная статья

УДК 504.064.2:631.461

<https://doi.org/10.35885/1684-7318-2023-3-352-373>

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ГОРОДСКИХ ПОЧВ НЕФТЕГАЗОНОСНОГО РЕГИОНА (НА ПРИМЕРЕ ТЕРРИТОРИИ КОГАЛЫМА)

Е. В. Плешакова ^{1✉}, Е. В. Глинская ¹, А. С. Коробейникова ¹,
Д. М. Голубев ¹, А. Ш. Шеуджен ², М. В. Решетников ²

¹ Саратовский национальный исследовательский государственный университет
имени Н. Г. Чернышевского

Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

² ООО «ЛУКОЙЛ-Инжиниринг»

Россия, 628486, г. Когалым, ул. Центральная, д. 19

Поступила в редакцию 10.04.2023 г., после доработки 17.05.2023 г., принята 17.05.2023 г., опубликована 22.09.2023 г.

Аннотация. В ходе работы оценили общую численность гетеротрофных микроорганизмов и количество бактерий-участников круговорота азота (аммонифицирующих, денитрифицирующих, нитрифицирующих и азотфиксирующих) в городских и естественных (фоновых) почвах г. Когалыма, выявили взаимосвязи полученных результатов с геохимическими показателями. Микробиологический анализ продемонстрировал преобладание в городских почвах азотфиксирующих микроорганизмов (5.0×10^4 – 2.0×10^6 КОЕ/г почвы), которых в естественных почвах было в среднем в 44 раза меньше. В естественных почвах среднее количество денитрифицирующих микроорганизмов составляло 7.0×10^4 КОЕ/г почвы, превышая в 1.3 раза их численность в городских почвах. На основе полученных данных был установлен ряд содержания микроорганизмов в почвах г. Когалыма: азотфиксаторы > аммонификаторы > гетеротрофы > денитрификаторы; в фоновых пробах: денитрификаторы > аммонификаторы > гетеротрофы > азотфиксаторы. Согласно данным эколого-геохимического анализа в Восточной промышленной зоне города обнаружено превышение ПДК подвижных форм тяжёлых металлов, таких как Cu, Ni и Zn. Выявлена достоверная обратная корреляция между количеством денитрифицирующих микроорганизмов в микробоценозах почв г. Когалыма и содержанием подвижных форм Ni и Cu, что указывает на возможное негативное действие этих металлов на развитие денитрификаторов. Обнаружена минимальная численность аммонифицирующих, денитрифицирующих и азотфиксирующих микроорганизмов в Восточной промышленной зоне, особенно в почвенных пробах, отобранных вблизи железной дороги. В целом, отсутствие заметных различий в содержании микроорганизмов изученных

✉ Для корреспонденции. Кафедра биохимии и биофизики Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского.

ORCID и e-mail адреса: Плешакова Екатерина Владимировна: <https://orcid.org/0000-0003-3836-0258>, plekat@yandex.ru; Глинская Елена Владимировна: <https://orcid.org/0000-0002-1675-5438>, elenavg-2007@yandex.ru; Коробейникова Анастасия Сергеевна: <https://orcid.org/0000-0002-3157-693X>, korobeinikovaanastasija@yandex.ru; Голубев Дмитрий Михайлович: <https://orcid.org/0000-0001-9471-6066>, dimagolubev2018@yandex.ru; Шеуджен Александр Шамирзович: <https://orcid.org/0000-0002-0000-2909>, Aleksandr.Sheudzhen@lukoil.com; Решетников Михаил Владимирович: <https://orcid.org/0000-0001-8298-029X>, rmv85@list.ru.

© Плешакова Е. В., Глинская Е. В., Коробейникова А. С., Голубев Д. М., Шеуджен А. Ш., Решетников М. В., 2023

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ГОРОДСКИХ ПОЧВ

групп в городских и естественных почвах свидетельствует о слабом уровне загрязнения почв в г. Когалыме. Полученные результаты являются основой для последующего экологического мониторинга почв г. Когалыма и прилегающих нефтедобывающих районов, прогнозирования экологических последствий антропогенной деятельности на данных территориях.

Ключевые слова: загрязнение почв, тяжёлые металлы, гетеротрофные, аммонифицирующие, денитрифицирующие, нитрифицирующие и азотфиксирующие микроорганизмы

Для цитирования. Плешакова Е. В., Глинская Е. В., Коробейникова А. С., Голубев Д. М., Шеуджен А. Ш., Решетников М. В. Микробиологическая оценка состояния городских почв нефтегазоносного региона (на примере территории Когалыма) // Поволжский экологический журнал. 2023. № 3. С. 352 – 373. <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2023-3-352-373>

ВВЕДЕНИЕ

Одним из приоритетных направлений государственной политики современности является экологическая безопасность окружающей среды. Максимально возможное сохранение городских почв на фоне высокого уровня техногенного загрязнения с широким спектром экотоксикантов представляется чрезвычайно важным не только с экологической точки зрения, но и с экономической (Макаров, Макаров, 2016).

Город Когалым Ханты-Мансийского автономного округа (ХМАО), Тюменской области – основного нефтегазоносного района России – быстро развивающийся город, он основан в 1975 г., площадью 20,5 км², с численностью населения 68700 человек (по данным 2021 г.). Градообразующее предприятие: ООО «ЛУКОЙЛ – Западная Сибирь». Как известно, нефтедобывающая отрасль оказывает мощное техногенное воздействие на почвенный покров, загрязняя его нефтяными углеводородами (УВ) и сопутствующими поллютантами разной степени токсичности, например, тяжёлыми металлами (ТМ) (Геннадиев, 2016). Загрязнение почвы в районах нефтедобычи может представлять собой значительную геохимическую угрозу для экосистем, так как в сырой нефти и буровых растворах присутствует ряд ТМ: свинец (Pb), никель (Ni), кадмий (Cd), хром (Cr), ванадий (V) и цинк (Zn) (Fu et al., 2014; Mustafa et al., 2015).

Почвы как стационарный элемент экосистемы выполняют функцию буфера, фильтра и не могут избежать влияния действующих на них факторов. Ведущая роль в выполнении экологических функций почвы отводится микроорганизмам, что определяет важность исследования микробных сообществ (Звягинцев, 1987; Напрасникова, Макарова, 2012; Wolińska et al., 2016). Оценка состояния и изменения почвенной микробиоты – одна из важнейших задач мониторинга почв, так как почвенные микроорганизмы являются наиболее чувствительными индикаторами изменения почвенно-экологических условий.

При воздействии любого загрязнителя на почву происходит изменение её микробиоты. Для микрофлоры почвы нефть выступает, с одной стороны, как источник углерода, а с другой – как загрязняющее вещество с токсическими свойствами. В этой связи попадание её в почву может как стимулировать развитие и размножение микроорганизмов, так и угнетать. Преобладание какого-либо из этих

процессов определяется составом нефти, её количеством и сроком воздействия (Журавлёва и др., 2017). Многочисленными исследованиями показано, что ТМ активно влияют на состав и численность почвенных микробных комплексов. Под влиянием ТМ происходят такие изменения, как возрастание или снижение общей численности определённых микроорганизмов, увеличение или снижение видового разнообразия, смена доминирующих и соподчинённых видов и т.д. (Murata et al., 2005; Terekhova et al., 2017). Металлы ингибируют процессы минерализации и синтеза различных веществ в почвах, подавляют дыхание почвенных микроорганизмов и способствуют морфологическим изменениям их репродуктивных органов, вызывают микробостатический эффект, могут выступать как мутагенный фактор (Фокина и др., 2015; Friedlová, 2010). Стерилизующий эффект поликомпонентных загрязнений приводит к выпадению чувствительных видов микроорганизмов, распаду микробных ценозов, потере биохимической активности почвы, а гибель микроорганизмов приводит к деградации экосистем (Еремченко и др., 2010).

ХМАО является одной из основных территорий в России по добыче нефти. Показано, что долгие годы эксплуатации нефтяных и газовых месторождений в регионе повлияли на состояние природной среды. Объекты нефтедобычи существенно изменили природные ландшафты округа, порывы нефтепроводов нанесли непоправимый вред природе (Соколов и др., 2017). Решение проблемы охраны почв и повышения их плодородия невозможно без знания изменения почвенных свойств и процессов, вызванных антропогенным воздействием. Очень важно не допустить потерь азота и снижения уровня его содержания в почвах, необходимого для развития лесной растительности на Европейском Севере (Федорец, Бахмет, 2003).

Город Когалым занимает устойчивое экономическое положение и имеет большой потенциал для дальнейшего развития. Осваиваются новые нефтяные месторождения, увеличивается население за счёт естественного прироста и притока перспективных кадров. Поэтому микробиологический анализ городских почв Когалыма имеет большое значение как для характеристики эколого-биологического состояния почв на современном этапе, так и дальнейшего прогнозирования экологических последствий деятельности человека на данной территории.

Целью настоящего исследования явилась оценка численности микроорганизмов определённых эколого-физиологических групп для диагностики состояния почвенно-биотического комплекса г. Когалыма. В ходе работы определяли: общую численность гетеротрофных микроорганизмов, количество микроорганизмов азотного цикла: аммонифицирующих, денитрифицирующих, нитрифицирующих и азотфиксирующих; выявляли взаимосвязи с геохимическими показателями.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования использовали почвенные пробы, отобранные на территории г. Когалыма, который находится на 62°16' с.ш., 74°29' в.д., высота над уровнем моря – 80 м. Когалымский регион расположен на Западно-Сибирской равнине, которая на территории ХМАО представлена подзонами север-

ной и средней тайги. Основу растительного покрова составляют сфагновые болота верхового типа и лесная растительность. Лесной покров подзон представлен сосновыми (62%), елово-кедровыми (18%), еловыми и берёзовыми лесами.

Город Когалым приравнен к районам Крайнего Севера. Здесь преобладает резко континентальный климат. Почвы Когалымского региона подзолистые тайги и болотные. Сосновые леса развиваются на торфянисто-подзолисто-глеевых почвах в условиях длительного избыточного увлажнения, а также на заторфованных понижениях среди дренированных массивов. Сосняки приурочены в основном к дренированным поверхностям водно-ледниковых равнин, песчаным субстратам. Под ними обычно формируются иллювиально-железистые почвы.

В 17 км северо-западнее г. Когалыма находится Когалымское нефтяное месторождение, освоение которого началось в 1985 г. Месторождение относится к Западно-Сибирской провинции. В пределах месторождения выявлены 7 нефтяных залежей пластово-сводового и структурно-литологически экранированного типов.

Река Ингу-Ягун делит город на правобережный с капитальной застройкой 5 – 16 этажей и левобережный, состоящий из пос. Пионерный (Старый город), Фестивальный, Прибалтийских строителей – 1 – 3 этажа застройки и Северной и Восточной промышленных зон.

Основная отрасль промышленности г. Когалыма – нефтедобывающая, а также обработка и транспортировка углеводородной продукции. На обрабатывающее производство приходится около 30% от всего товарооборота. Это производства кокса и других нефтепродуктов, выпуск химической продукции, производство электронного оборудования.

В ходе настоящей работы были отобраны и изучены 53 почвенные пробы на пересечении основных автомобильных дорог г. Когалыма (рис. 1). Пробы с 1 по 26 отобраны в центральной селитебной части города, с 27 по 33 – в Северной промышленной зоне, а с 34 по 53 – на территории Восточной промышленной зоны и пос. Пионерный (Старый город), Фе-



Рис. 1. Схема расположения площадок опробования на территории г. Когалыма: 1 – кварталы застройки, 2 – водные объекты, 3 – железная дорога, 4 – автодорога, 5 – площадки опробования

Fig. 1. Layout of the testing areas on the territory of Kogalym: 1 – building districts, 2 – water sites, 3 – railway, 4 – highway, 5 – testing sites

стивальный, Прибалтийских строителей. Фоновые пробы в количестве 10 штук были отобраны на удалении 10 км в западном направлении от территории города в идентичных городским геоморфологическим и геологическим условиям. Отбор и подготовка проб производились в июне 2021 г. в соответствии с ГОСТ 17.4.4.02-84. Точки отбора проб размещались с учётом розы ветров, особенностей микрорельефа, плана размещения зданий и коммуникаций. Отбор проб верхней части почвенного горизонта «А» (5 см), где обычно накапливается основная масса загрязнителей, выпадающих из атмосферы, осуществлялся методом «конверта» с пробных площадок размером от 2 – 3 до 10 м². Вес объединённой пробы варьировал в пределах 0.5 – 1.0 кг. Почвы: подзолы иллювиально-гумусовые; торфяные болотные верховые и торфяные болотные переходные с мелкими термокарстовыми озёрами; пойменные заболоченные. Почвообразующие породы – песчаные (Национальный атлас почв..., 2011).

Оценку общей численности культивируемых гетеротрофных микроорганизмов производили на ГРМ-агаре (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия) общепринятыми бактериологическими методами (Нетрусов и др., 2005). Учёт численности культивируемых микроорганизмов азотного цикла производили на агаризованных селективных средах. Численность аммонифицирующих микроорганизмов определяли на селективной среде следующего состава, г/л: пептон – 10.0; голодный агар – 20.0; денитрифицирующих микроорганизмов на среде: ГРМ-агар – 38±2; KNO₃ – 1.0; нитрифицирующих микроорганизмов – на среде Виноградского: KNO₃ – 10.0; K₂HPO₄ – 5.0; MgSO₄ – 2.5; NaCl – 2.5; FeSO₄ – 0.05; голодный агар – 20.0; азотфиксирующих микроорганизмов – на среде Эшби: глюкоза – 20.0; K₂HPO₄ – 0.2; MgSO₄ – 0.2; NaCl – 0.2; K₂SO₄ – 0.2; CaCO₃ – 5.0; голодный агар – 20.0.

Определение численности микроорганизмов в исследуемой почве включало несколько этапов: подготовку почвы к микробному анализу (гомогенизация), приготовление разведений почвенной суспензии в стерильном физиологическом растворе; посев полученных разведений на плотную среду в чашки Петри и подсчёт выросших колоний через 3 – 5 сут. культивирования в термостате при температуре 28 – 30°C (Foght, Aislabie, 2005). Высевы на ГРМ-агар и на селективные среды производили из разведений 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ в нескольких повторностях. Все данные по численности микроорганизмов 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, Pb) определяли в вытяжках 1 М HNO₃ (РД 52.18.191-89).

Все полученные экспериментальные данные подвергали статистической обработке. Для этого полученные цифровые значения проверяли на нормальность распределения по критерию Колмогорова – Смирнова. Сравнение средних проводили с использованием теста Фишера и показателя наименьшей существенной разницы ($p \leq 0.05$) в однофакторном анализе дисперсии (ANOVA). Корреляционный анализ взаимосвязей между микробиологическими и эколого-геохимическими свойствами почв проводили с помощью расчёта коэффициента Пирсона (r).

Для обработки и анализа данных использовали пакет STATISTICA 13.0 (TIBCO Software Inc. 2017, Statsoft Russia).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Контроль качества окружающей среды по биоиндикаторным организмам в настоящее время признан актуальным экологически ориентированным научным подходом. Несмотря на существенное влияние сезонных факторов на почвенные микроорганизмы, общая численность гетеротрофных микроорганизмов и численность микроорганизмов отдельных физиологических групп являются надёжными индикаторами состояния почв в процессе урботрансформации (Sumampouw, Risjani, 2014). Центральное положение в области почвенной микробиологии занимает цикл превращений азотсодержащих соединений в почве, тесно связанный с развитием и биохимической деятельностью аммонифицирующих, нитрифицирующих, денитрифицирующих и азотфиксирующих микроорганизмов (Grzyb et al., 2021). Различия в составе и численности микроорганизмов, участвующих в процессах метаболизма азота в почвах, могут служить основой биоиндикационной оценки влияния на почву техногенных загрязнителей.

Многие физиологические группы почвенных микроорганизмов проявляют чувствительность по отношению к нефтяным углеводородам (Саксонов и др., 2005; Коршунова и др., 2019). Характер воздействия нефтяного загрязнения на почвенные микроорганизмы определяется длительностью воздействия нефти или нефтесодержащих отходов и особенностями почвы, главным образом, её естественной буферностью. Нефть содержит как компоненты, легко усваиваемые микроорганизмами (источник энергии), так и усложняющие и замедляющие биологические процессы. Вследствие этого нефтяное загрязнение может вызывать как усиление активности микроорганизмов определённых групп, так и их угнетение. Почвенные микроорганизмы отвечают на нефтяное загрязнение повышением валовой численности и усилением активности, связанным, по мнению авторов (Колесников и др., 2007), с поступлением в почву дополнительного количества доступного микроорганизмам органического вещества. Кроме того, возможно, что токсические соединения, содержащиеся в нефти и нефтепродуктах, аккумулируясь на поверхности микробной клетки в нелетальных концентрациях, изменяют проницаемость мембраны, нарушают её барьерные функции, что определяет свободное поступление пищи в клетку и усиление метаболизма. В дальнейшем различные группы микроорганизмов по-разному реагируют на присутствие нефти: количество гетеротрофных, азотфиксирующих, аммонифицирующих, денитрифицирующих, углеводородокисляющих, спорообразующих бактерий, грибов, дрожжей, актиномицетов возрастает, нитрифицирующих, целлюлозоразрушающих – снижается, других остаётся постоянным (Рогозина, Шиманский, 2007; Мелехина и др., 2015).

Общая численность микроорганизмов, как правило, достаточно чётко отражает микробиологическую активность почвы, скорость разложения органических веществ и круговорота минеральных элементов. На основании данного показателя можно не только судить о степени загрязнённости почвы нефтью, но и о потенци-

альной способности почвы к восстановлению, а также о процессах разложения нефти в естественных природных условиях и при рекультивации загрязнённых почв (Малыхина и др., 2016). Численность гетеротрофных микроорганизмов в загрязнённой УВ почве является важным диагностическим параметром, потому что почвенная микрофлора активно участвует в процессах естественной деструкции углеводов.

Выступая в роли экотоксикантов, УВ могут ингибировать аборигенную почвенную микрофлору (Galitskaya et al., 2015). Рядом авторов показано, что углеводородное загрязнение почвы вызывает снижение количества гетеротрофных бактерий (Kucharski et al., 2010; Adesina, Adelasoye, 2014). Было показано (Nazim, Al-Ani, 2019), что керосин, дизельное топливо, смазочное масло и отработанное смазочное масло в концентрациях 5 и 10% значительно снижали количество гетеротрофных бактерий, наблюдалась обратная зависимость между концентрацией загрязняющих веществ и количеством гетеротрофных бактерий.

По данным проведённого нами геохимического анализа средняя концентрация подвижных форм ТМ в фоновых пробах была значительно ниже ПДК (в десятки и сотни раз), составляя: Cu и Ni – 0.18 мг/кг, Zn – 0.04 мг/кг; Pb – 0.61 мг/кг почвы. На исследованной территории г. Когалыма в 12 пробах подвижные формы Cu превышали ПДК (3.0 мг/кг) (Кузнецов и др., 1992). Выделялся один из районов города, расположенный в восточной части исследованной территории, в промышленной зоне, в котором отмечено превышение над ПДК в большинстве проб. В пробе № 38 превышение было максимальным (3.85 ПДК). В 14 пробах подвижные формы Ni превышали ПДК (4.0 мг/кг) (ГН 2.1.7.2041-06). В том же Восточном промышленном районе были сосредоточены почвы с повышенным содержанием подвижных форм Ni. В пробе № 47, находящейся на востоке территории, показано максимальное превышение над ПДК (в 2.2 раза). Во всех пробах обнаружены подвижные формы Pb от 0.08 до 2.93 мг/кг почвы, которые не превышали ПДК (6.0 мг/кг почвы) (ГН 2.1.7.2041-06). Во всех пробах обнаружены подвижные формы Zn в концентрации от 1.76 до 26.01 мг/кг почвы. Только в трёх пробах (№ 28, 33 и 38) концентрация подвижных форм Zn незначительно превышала ПДК (23.0 мг/кг почвы) (СанПиН 42-128-4433-87). Максимальная концентрация отмечена в пробе № 38, в которой было обнаружено также и максимальное содержание подвижных форм Cu.

Установлено (Багаева и др., 2013), что низкие концентрации ТМ в почве могут стимулировать рост и активность метаболических процессов у микроорганизмов и увеличивать микробную биомассу, а в более высоких концентрациях становятся токсичными и могут способствовать уменьшению микробной биомассы. ТМ способны ингибировать и блокировать отдельные процессы метаболизма почвенных бактерий (Сорокин и др., 2009), снижая их численность. Под действием ТМ может происходить ингибирование брожения, подавляться фотосинтез и азотфиксация. Показано значительное ингибирование нитрификации при содержании свинца и цинка в почве, равном 0.1%, никеля – 0.5%. Установлено, что медь и кадмий ингибируют процессы денитрификации. Высокие дозы меди, магния, цинка, хрома снижают активность аммонификации и нитрификации.

В то же время показано, что ТМ могут стимулировать развитие олигонитрофильных, споровых, аммонифицирующих, денитрифицирующих бактерий, актиномицетов и мицелиальных микроорганизмов в загрязнённых почвах (Мынбаева и др., 2013). Эффект, оказываемый загрязнением на микробиологические процессы, зависит от состава поступающих в почву веществ, интенсивности загрязнения, буферной способности почв. Установлено, что полиметаллическое загрязнение всегда оказывает более заметный эффект, чем загрязнение индивидуальным ТМ (Su et al., 2014).

Среднее количество культивируемых аэробных гетеротрофных микроорганизмов в фоновых почвенных пробах, как показали наши исследования, составило 5.1×10^4 КОЕ/г почвы, а в городских почвах изученной территории было в 3 раза выше – 1.5×10^5 КОЕ/г почвы. Данные почвы не отличаются богатством гетеротрофных микроорганизмов по шкале Д. Г. Звягинцева (1978), различия между значениями в фоновых пробах и урбопочвах не существенны и согласуются с известными сведениями о том, что в естественных почвах численность гетеротрофных бактерий ниже, чем в антропогенно-преобразованных почвах (Мишустин, 1975). Исследования, проведённые в почвах подтаёжных зон (Загуральская, 1993; Федорец, Бахмет, 2003), показали, что такие почвы бедны микроорганизмами, в них преобладают бактериально-грибные ценозы. В центральной селитебной части г. Когалыма в трёх пробах (№ 1, 2 и 3) количество гетеротрофных микроорганизмов находилось на высоком уровне: 1.0×10^8 КОЕ/г почвы, обусловленное, по всей видимости, поступлением в почву дополнительных субстратов для микроорганизмов биологического или синтетического происхождения.

Цикл превращений азотсодержащих соединений в почве неразрывно связан с развитием и биохимической деятельностью аммонифицирующих микроорганизмов. Аммонификаторы разлагают азотсодержащие соединения на более простые, которые осмотическим путём проникают в клетки микроорганизмов и под действием внутриклеточных ферментов подвергаются дезаминированию. Аммонификации подвергаются все белковые вещества, содержащиеся в почве. Аммонификаторы, как правило, разлагают легкодоступное азотсодержащее органическое вещество почвы. Процесс аммонификации неспецифичен, его способны проводить различные микроорганизмы, чаще всего представители родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, а также *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*.

Результаты настоящих исследований показали, что почвы территории г. Когалыма по уровню обогащённости по шкале Д. Г. Звягинцева (1978) очень обеднены ($< 1 \times 10^6$ КОЕ/г почвы) и обеднены ($1 - 2 \times 10^6$ КОЕ/г почвы) бактериями-аммонификаторами (рис. 2). Количество аммонифицирующих микроорганизмов в большинстве почвенных микробоценозов составляло от 2.0×10^4 до 1.0×10^6 КОЕ/г почвы. Обнаруживалось несколько аномальных участков в селитебной части города с крайне высокой численностью аммонификаторов: пробы № 1, 3 (3.0×10^8 КОЕ/г почвы) и проба № 11 (5.0×10^8 КОЕ/г почвы), возможно, связанной с загрязнением почвы веществами не техногенного происхождения. Хотя не исключено и влияние ксенобиотиков. Активизация процессов аммонификации свидетельствует об интенсификации процессов обмена азотсодержащих органических веществ.

Авторами (Колесников и др., 2007; Середина и др., 2017) сообщалось об увеличении численности аммонифицирующих микроорганизмов в нефтезагрязнённой почве в 2 – 5 раз и более. Биологическое превращение соединений аммония непосредственно связано с соотношением легкодоступного углерода в почве и азота (C/N). Если в почве это соотношение очень широко, то происходит сравнительно быстрое увеличение численности и массы аммонифицирующих микроорганизмов. В Северной и Восточной промышленной зоне города, как видно из рис. 2, содержание аммонификаторов было минимальным. В пробах № 33, 44 и 45 численность аммонифицирующих микроорганизмов была самой низкой. Наши исследования показали, что среднее содержание аммонифицирующих микроорганизмов в фоновых пробах составляло 6.5×10^4 КОЕ/г почвы. В целом, в изученных почвах г. Когалыма численность аммонификаторов была в среднем в 3 раза выше, чем в неокультуренных почвах, что согласуется с литературными данными (Мишустин, 1975).

Денитрификаторы – группа микроорганизмов, которая приводит к восстановлению нитратов до закиси азота или молекулярного азота. Данный процесс обычно происходит при уменьшении содержания кислорода в почве (Кутовая и др., 2019). Развитию в загрязнённых почвах денитрификаторов способствует избыток органической массы, слабощелочная реакция среды и микрoэкологический фактор – низкий окислительно-восстановительный потенциал. Э. Р. Рахимовой с соавторами (2004) было показано, что в нефтезагрязнённой почве численность денитрифицирующих микроорганизмов возрастала в связи с созданием в загрязнённой почве анаэробных условий.

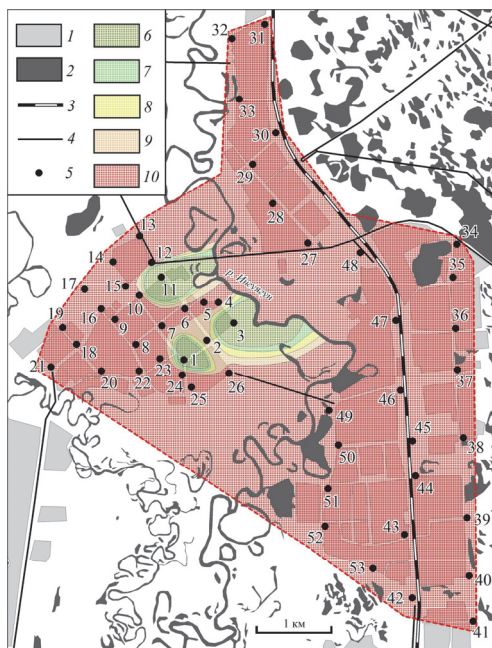


Рис. 2. Характер распределения содержания аммонифицирующих микроорганизмов ($\log$ числа микроорганизмов/г почвы) в почвах г. Когалыма: 1 – кварталы застройки, 2 – водные объекты, 3 – железная дорога, 4 – автодорога, 5 – площадки опробования. Степень обогащённости почвы аммонифицирующими микроорганизмами: 6 – очень богатая (>7.0), 7 – богатая (6.7 – 7.0), 8 – средняя (6.3 – 6.7), 9 – обеднена (6.0 – 6.3), 10 – очень обеднена (<6.0)

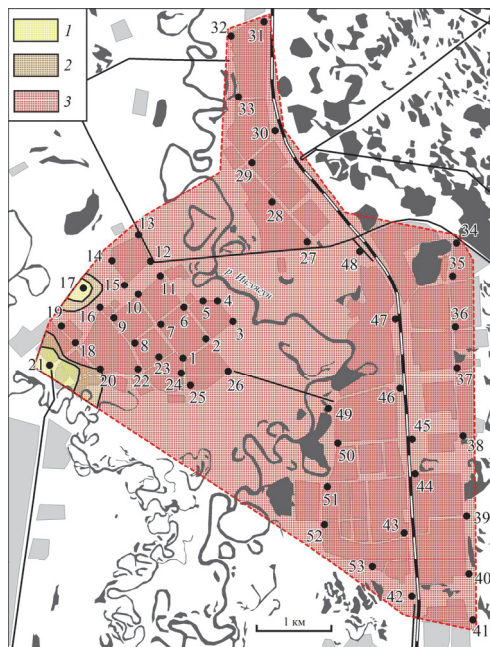
Fig. 2. Pattern of the distribution of the amount of ammonifying microorganisms ($\log$ of the number of microorganisms/g of soil) in the soils of Kogalym: 1 – building districts, 2 – water sites, 3 – railway, 4 – highway, 5 – testing sites. The degree of soil enrichment with ammonifying microorganisms: 6 – very rich (>7.0), 7 – rich (6.7–7.0), 8 – medium (6.3–6.7), 9 – depleted (6.0–6.3), 10 – very depleted (<6.0)

Известно, что нефтяное загрязнение резко снижает активность фермента нитратредуктазы в почве, который катализирует восстановление нитратного азота в почве до аммиака. При этом ингибирующее влияние нефтяных УВ на активность фермента «компенсируется» увеличением численности денитрификаторов, что способствует сохранению скорости процесса денитрификации в загрязнённой почве. С точки зрения круговорота азота, усиление процесса денитрификации – нежелательное явление, так как происходит обеднение почвы азотом. С другой стороны, вовлекая в окислительный метаболизм продукты частичного окисления углеводородов при сопряжённом восстановлении нитратов, денитрификаторы участвуют в процессах биодegradации.

Среднее содержание денитрифицирующих микроорганизмов в фоновых пробах составляло 7.0×10^4 КОЕ/г почвы. По уровню обогащённости по шкале Д. Г. Звягинцева (1978) данные почвы очень обеднены ($< 1 \times 10^6$ КОЕ/г почвы) денитрифицирующими микроорганизмами. Нами было установлено, что урбопочвы территории г. Когалыма тоже очень обеднены денитрификаторами (рис. 3). Этот микробиологический показатель не сильно варьировал в городских почвах изученной территории и не отличался заметно от значений в фоновых пробах. В среднем в городских почвах численность денитрифицирующих микроорганизмов была в 1.3 раза ниже, чем в фоновых пробах. Лишь три участка в селитебной центральной части города характеризовались повышенными значениями: пробы № 17, 20 и 21 ($1 - 5 \times 10^6$ КОЕ/г почвы). Так же, как и количество аммонифицирующих микроорганизмов, пониженное содержание денитрифицирующих микроорганизмов обнаруживалось в промышленных зонах на востоке и северо-востоке территории с минимальным количеством в пробах № 28, 38, 39, 43 и 44.

Рис. 3. Характер распределения содержания денитрифицирующих микроорганизмов (log числа микроорганизмов/г почвы) в почвах г. Когалыма. Степень обогащённости почвы денитрифицирующими микроорганизмами: 1 – средняя (6.3 – 6.7), 2 – обеднена (6.0 – 6.3), 3 – очень обеднена (< 6.0)

Fig. 3. Pattern of the distribution of the amount of denitrifying microorganisms (log of the number of microorganisms/g of soil) in the soils of Kogalym. The degree of soil enrichment with denitrifying microorganisms: 1 – medium (6.3–6.7), 2 – depleted (6.0–6.3), 3 – very depleted (< 6.0)



Нитрификаторы – микроорганизмы, которые осуществляют аэробное окисление аммиака и нитритов до азотистой кислоты или её самой далее до азотной кислоты в процессе нитрификации (Rana et al., 2019).

В ряде исследований показано, что почвы северотаёжной и среднетаёжной подзоны бедны микроорганизмами, как в количественном, так и в качественном отношении (Загуральская, 1993; Евдокимова, 1995). В связи с климатическими особенностями, а также физическими и химическими свойствами почвы формируются чрезвычайно малочисленные микробоценозы с крайне ограниченными деятельностью и функциями. Отсутствуют нитрификаторы, очень незначительно представлены денитрификаторы. Азотфиксирующие бактерии представлены анаэробными формами, численность их невелика. Было показано (Середина и др., 2017), что в неблагоприятных гидротермических условиях в торфяных почвах преобладают восстановительные процессы, и минерализация белковых веществ заканчивается на стадии образования аммиака. Неблагоприятные физические, химические и температурные условия угнетают деятельность нитрифицирующих бактерий, в результате чего образовавшийся аммиак не подвергается окислению, с чем связано крайне низкое, а иногда и полное отсутствие нитратного азота в торфяных почвах.

Известно, что нитрифицирующие бактерии являются наиболее чувствительными к воздействию нефти (Габбасова, 2004; Сулейманов, 2005). Снижение их численности в условиях загрязнения связано с тем, что в почве создается неблагоприятный для них воздушный режим. Депрессия нитрификационного процесса является своеобразным механизмом ауторегуляции биохимических процессов в условиях значительного расширения соотношения C:N, который заключается в направлении круговорота азота по более короткозамкнутому циклу. Снижение интенсивности процессов нитрификации может происходить и под влиянием высоких концентраций ТМ (Евдокимова, 2014).

Численность нитрифицирующих микроорганизмов, как в городских, так и в фоновых пробах изученных нами почв была низкой, составляя менее 1000 КОЕ/г почвы. Только в двух пробах городских почв центральной селитебной зоны г. Когалыма (№ 4 и 15) были выявлены нитрифицирующие микроорганизмы в количестве 4.0×10^4 и 2.0×10^5 КОЕ/г почвы соответственно.

Азотфиксаторы (дiazотрофы) – микроорганизмы, способные переводить молекулярный азот из воздуха в соединения, доступные для большинства организмов (Bagali, 2012). Промышленное загрязнение может как подавлять, так и стимулировать интенсивность азотфиксации. Высокие концентрации ТМ подавляют азотфиксирующую активность почвенных микроорганизмов. Наоборот, показано увеличение видового разнообразия и численности азотфиксирующих микроорганизмов в ответ на нефтяное загрязнение почвы (Елин, 2002).

При исследовании почв территории г. Когалыма обнаружено, что количество азотфиксирующих микроорганизмов, согласно шкале Д. Г. Звягинцева (1978), соответствует очень бедному ($< 2 \times 10^6$ КОЕ/г почвы) и бедному ($2 - 4 \times 10^6$ КОЕ/г почвы) уровню обогащённости (рис. 4). Их содержание в большинстве почвенных микробоценозов составляло от 5.0×10^4 до 2.0×10^6 КОЕ/г почвы. Обнаруживалось

несколько аномальных участков в селитебной части города с повышенной численностью азотфиксаторов: пробы № 2 и 14 (5.0×10^6 КОЕ/г почвы); пробы № 12 и 19 (1.0×10^7 КОЕ/г почвы). В Восточной промышленной зоне наблюдалось сниженное содержание азотфиксаторов с минимальным количеством в пробах № 40, 41 и 45. Среднее содержание азотфиксирующих микроорганизмов в фоновых пробах составляло 4.0×10^4 КОЕ/г почвы, что было значительно ниже (примерно в 44 раза), чем в большинстве ценозов городских почв.

В результате проведённого нами корреляционного анализа (таблица) была обнаружена сильная положительная взаимосвязь между ОЧГМ и количеством аммонифицирующих микроорганизмов ($r = 0.84$, $p \leq 0.05$); невысокая прямая корреляции ($r = 0.32$, $p \leq 0.05$) между ОЧГМ и количеством азотфиксирующих микроорганизмов; а также между содержанием денитрифицирующих и азотфиксирующих микроорганизмов.

Установлена значимая отрицательная корреляция между количеством денитрифицирующих микроорганизмов и содержанием в почве ТМ: Ni и Cu; невысокая отрицательная корреляция выявлена между количеством денитрифицирующих микроорганизмов и содержанием в почве Zn; между количеством аммонифицирующих микроорганизмов и содержанием в почве ТМ: Zn, Ni и Cu; между количеством азотфиксирующих микроорганизмов и содержанием в почве Ni. Невысокая прямая корреляция обнаружена между количеством азотфиксирующих микроорганизмов и содержанием в почве Pb.

Согласно полученным диагностическим показателям, с экологической точки зрения почвенные микробценозы территории г. Когалыма сильно не повреждены. Наиболее заметные различия между естественными и городскими почвами прослеживались для азотфиксирующих микроорганизмов, которых в естественных почвах было в среднем в 44 раза меньше, чем в урбопочвах Когалыма. В то же

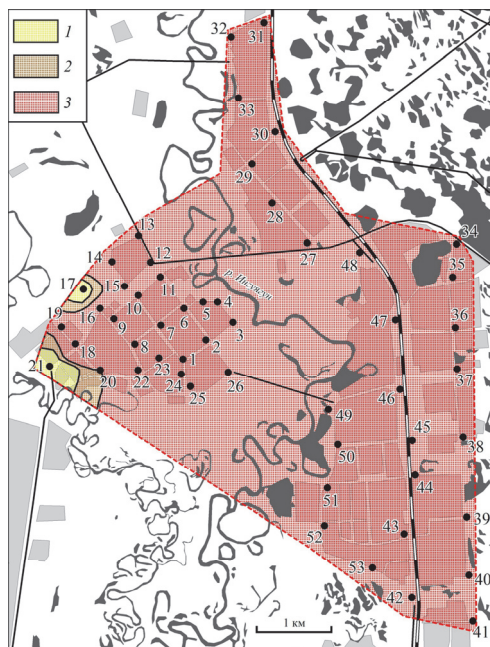


Рис. 4. Характер распределения содержания азотфиксирующих микроорганизмов (log числа микроорганизмов/г почвы) в почвах г. Когалыма. Степень обогащённости почвы азотфиксирующими микроорганизмами: 1 – средняя (6.6 – 7.0), 2 – обеднена (6.3 – 6.6), 3 – очень обеднена (<6.3)

Fig. 4. Pattern of the distribution of the amount of denitrifying microorganisms (log of the number of microorganisms/g of soil) in the soils of Kogalyma. The degree of soil enrichment with nitrogen-fixing microorganisms: 1 – medium (6.6–7.0), 2 – depleted (6.3–6.6), 3 – very depleted (<6.3)

время не было обнаружено сильных различий в численности гетеротрофных, аммонифицирующих, денитрифицирующих и нитрифицирующих микроорганизмов, которые могли бы наблюдаться при значительном воздействии на почву техногенных загрязнителей.

Корреляция между микробиологическими и геохимическими показателями почвы

Table. Correlation between microbiological and geochemical soil parameters

Показатель / Parameter	C_{Ni}	C_{Pb}	C_{Zn}	C_{Cu}	ОЧГМ / TNHM	Численность / Number		
						АФМ / NFM	АММ / AMM	ДНМ / DNM
C_{Ni}	1	–	–	–	–	-0.35*	-0.35*	-0.53*
C_{Pb}	–	1	–	–	–	0.36*	0.10	0.20
C_{Zn}	–	–	1	–	–	0.23	-0.38*	-0.33*
C_{Cu}	–	–	–	1	–	-0.25	-0.32*	-0.44*
ОЧГМ / TNHM	–	–	–	–	1	0.32*	0.04	0.02
Численность / Number								
АФМ / NFM	–	–	–	–	0.29	1	0.22	0.32*
АММ / AMM	–	–	–	–	0.84*	–	1	0.21
ДНМ / DNM	–	–	–	–	0.25	–	–	1

Примечания. *Значимая корреляция, при r , соответствующем уровню статистической значимости при $p \leq 0.05$. Сокращения: C – концентрация металла; ОЧГМ – общая численность гетеротрофных микроорганизмов; АФМ – азотфиксирующие микроорганизмы; АММ – аммонифицирующие микроорганизмы; ДНМ – денитрифицирующие микроорганизмы.

Notes. *Significant correlation, with r corresponding to the level of statistical significance when $p \leq 0.05$. Abbreviations: C – metal concentration; TNHM – total number of heterotrophic microorganisms; NFM – nitrogen-fixing microorganisms; AMM – ammonifying microorganisms; DNM – denitrifying microorganisms.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сравнивая средние значения изученных микробиологических показателей, можно отметить, что в фоновых пробах максимальной численностью обладают денитрифицирующие микроорганизмы, в почвах г. Когалыма – азотфиксирующие микроорганизмы. На основе полученных данных был установлен ряд содержания микроорганизмов в почвах г. Когалыма: азотфиксаторы > аммонификаторы > гетеротрофы > денитрификаторы; в фоновых пробах: денитрификаторы > аммонификаторы > гетеротрофы > азотфиксаторы.

Согласно данным эколого-геохимического анализа содержание подвижных форм Pb в почве города Когалыма и Zn (в большинстве проб) было в пределах нормы. В то же время содержание подвижных форм Ni и Cu превышало ПДК в восточной части городской территории. Снижение количества денитрифицирующих микроорганизмов в микробоценозах почв г. Когалыма по сравнению с фоновой территорией и наличие достоверной обратной корреляции с содержанием подвижных форм Ni и Cu указывает на возможное негативное действие данных ТМ на развитие денитрификаторов. Отсутствие заметной разницы в содержании гетеротрофных, аммонифицирующих, денитрифицирующих и нитрифицирующих микроорганизмов в городских почвах и фоновых пробах свидетельствует об от-

сутствии сильного влияния загрязнителей на территории города. Точечные аномальные зоны с высокими значениями численности микроорганизмов изученных физиологических групп были обнаружены не в промышленной, а в селитебной части города, и, скорее всего, не связаны с техногенным загрязнением. Повышенная численность азотфиксирующих микроорганизмов в почвах селитебной центральной части города, вероятно, связана с искусственным озеленением городской территории, развитием ризосферных и симбиотических микроорганизмов. Таким образом, согласно проведённым исследованиям, почвы территории г. Когалыма слабо загрязнённые и не представляют опасности для человека. В то же время необходимо отметить, что в Восточном промышленном районе наблюдались наиболее заметные отклонения от средних значений в изученных микробиологических показателях – снижение количества микроорганизмов азотного цикла: аммонифицирующих, денитрифицирующих и азотфиксирующих, особенно в почвенных пробах, отобранных вблизи железной дороги (№ 43 – 45).

Полученные результаты могут послужить основой для последующей системы долгосрочного мониторинга развивающегося города Когалыма, для разработки комплексного подхода при экологическом мониторинге урбосистем и прогнозирования состояния антропогенно нарушенных территорий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Багаева Т. В., Ионова Н. Э., Надеева Г. В.* Микробиологическая ремедиация природных систем от тяжелых металлов: учеб.-метод. пособие. Казань: Казанский университет, 2013. 56 с.
- Габбасова И. М.* Деградация и рекультивация почв Башкортостана. Уфа: Гилем, 2004. 284 с.
- Геннадиев А. Н.* Нефть и окружающая среда // Вестник Московского университета. Серия 5: География. 2016. № 6. С. 30 – 39.
- ГН 2.1.7.2041-06. Предельно допустимые концентрации (ПДК) и ориентировочно-допустимые концентрации (ОДК) химических веществ в почве: Гигиенические нормативы. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006. 15 с.
- 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.* Эколого-микробиологические основы охраны почв Крайнего Севера. Апатиты: Кольский научный центр Российской академии наук, 1995. 272 с.
- Евдокимова Г. А.* Почвенная микробиота как фактор устойчивости почв к загрязнению // Теоретическая и прикладная экология. 2014. № 2. С. 17 – 24.
- Еремченко О. З., Шестаков И. Е., Каменщикова В. И.* Эколого-биологические свойства урбаноземов г. Перми // Вестник Удмуртского университета. Биология. Науки о Земле. 2010. Вып. 4. С. 56 – 62.
- Елин Е. С.* Биогеохимическая трансформация нефти – загрязнителя и болотного биогеоценоза при их взаимодействии // Вестник экологии, лесоведения и ландшафтоведения. 2002. № 3. С. 153 – 166.
- Журавлева А. С., Лабутова Н. М., Андронов Е. Е.* Влияние нефтезагрязнения на микробоценоз почв, прилегающих к нефтехранилищу // Экологическая генетика. 2017. № 4. С. 60 – 68. <https://doi.org/10.17816/ecogen15460-68>

Загуральская Л. М. Микробная трансформация органического вещества в лесных почвах Карелии. СПб.: Наука. Санкт-Петербург. отд-ние, 1993. 136 с.

Звягинцев Д. Г. Биологическая активность почв и шкалы для оценки некоторых ее показателей // Почвоведение. 1978. № 6. С. 48 – 54.

Звягинцев Д. Г. Почва и микроорганизмы. М.: Изд-во МГУ, 1987. 256 с.

Колесников С. И., Казеев К. Ш., Велигонова Н. В., Патрушева Е. В., Азнаурьян Д. К., Вальков В. Ф. Изменение комплекса почвенных микроорганизмов при загрязнении чернозема обыкновенного нефтью и нефтепродуктами // Агрохимия. 2007. № 12. С. 44 – 48.

Коришуну Т. Ю., Четвериков С. П., Бакаева М. Д., Кузина Е. В., Рафикова Г. Ф., Четверикова Д. В., Логинов О. Н. Микроорганизмы в ликвидации последствий нефтяного загрязнения // Прикладная биохимия и микробиология. 2019. Т. 55, № 4. С. 338 – 349. <https://doi.org/10.1134/S0555109919040093>

Кузнецов А. В., Фесюн А. П., Самохвалов С. Г., Махонько Э. П. Методические указания по определению тяжелых металлов в почвах сельхозугодий и продукции растениеводства. М.: ЦИНАО, 1992. 61 с.

Кутюкова О. В., Тхакахова А. К., Семенов М. В., Чернов Т. И., Ксенофонтова Н. А., Железова А. Д., Гаджимаров Р. Г., Стукалов Р. С., Иванова Е. А., Никитин Д. А. Сравнительная оценка влияния нулевой и традиционной обработки на биологическую активность агро-черноземов Ставропольского края // Бюллетень Почвенного института им. В. В. Докучаева. 2019. № 100. С. 159 – 189. <https://doi.org/10.19047/0136-1694-2019-100-159-189>

Макаров О. А., Макаров А. А. Подходы к оценке риска химического загрязнения городских почв // Почвоведение. 2016. № 9. С. 1147 – 1156. <https://doi.org/10.7868/S0032180X16090094>

Малыхина Л. В., Шайдуллина И. А., Антонов Н. А., Сибгатова Д. И., Яппаров А. Х., Дегтярева И. А., Латыпова В. З., Гадиева Э. Ш. Применение новых биотехнологий при рекультивации черноземов со смешанным типом загрязнения // Георесурсы. 2016. Т. 18, № 2. С. 138 – 144.

Мелехина Е. Н., Маркарова М. Ю., Щемелинина Т. Н., Анчугова Е. М., Канев В. В. Восстановительные сукцессии биоты в торфяной почве с нефтяным загрязнением при различных методах биологической рекультивации // Почвоведение. 2015. № 6. С. 740 – 750. <https://doi.org/10.7868/S0032180X15060076>

Мишустин Е. Н. Ассоциация почвенных микроорганизмов. М.: Наука, 1975. 114 с.

Мынбаева Б. Н., Сейлова Л. Б., Воронова Н. В., Муздыбаева К. К., Амирашев Б. А., Иманбекова Т. Г. Микробиологическая индикация почв г. Алматы, загрязненных тяжелыми металлами // Доклады по экологическому почвоведению. 2013. Вып. 18, № 1. С. 176 – 184.

Напрасникова Е. В., Макарова А. П. Эколого-микробиологическая и биохимическая характеристика почвенного покрова в условиях аэротехногенного загрязнения // Известия Иркутского государственного университета. Серия: Биология. Экология. 2012. Т. 5, № 2. С. 19 – 26.

Национальный атлас почв Российской Федерации. М.: Астрель, 2011. 632 с.

Нетрусов А. И., Егорова М. А., Захарчук Л. М. Практикум по микробиологии. М.: Академия, 2005. 608 с.

Рахимова Э. Р., Осипова А. Л., Зарипова С. К. Очистка почвы от нефтяного загрязнения с использованием денитрифицирующих углеводородокисляющих микроорганизмов // Прикладная биохимия и микробиология. 2004. Т. 40, № 6. С. 649 – 653.

РД 52.18.191-89. Методика выполнения измерений массовой доли кислоторастворимых форм металлов (меди, свинца, цинка, никеля, кадмия) в пробах почвы атомно-абсорбционным анализом. М.: Государственной комитет СССР по гидрометеорологии, 1990. 32 с.

Рогозина Е. А., Шиманский В. К. Модели изменения почвенных экосистем под действием углеводородного загрязнения // Нефтегазовая геология. Теория и практика. 2007. № 2. С. 27 – 43.

Саксонов М. Н., Абалаков А. Д., Данько Л. В., Бархатова О. А., Балаян А. Э., Стом Д. И. Экологический мониторинг нефтегазовой отрасли. Физико-химические и биологические методы: учеб. пособие. Иркутск: Иркутский государственный университет, 2005. 114 с.

СанПиН 42-128-4433-87 «Санитарные нормы допустимых концентраций химических веществ в почвах», утв. заместителем Главного государственного санитарного врача СССР, 30.10.88 № 4433-87; ред. от 07.02.99. М., 1999. 25 с.

Середина В. П., Колесникова Е. В., Кондыков В. А., Непотребный А. И., Огнев С. А. Особенности влияния нефтяного загрязнения на почвы средней тайги Западной Сибири // Нефтяное хозяйство. 2017. № 5. С. 108 – 112. <https://doi.org/10.24887/0028-2448-2017-5-108-112>

Соколов С. С., Сторчак Т. В., Тихомиров Я. Н. Разработка информационно-аналитической системы экологического мониторинга для слежения за текущим состоянием окружающей среды на территории нефтяных месторождений // Бюллетень науки и практики. 2017. № 4 (17). С. 170 – 183. <https://doi.org/10.5281/zenodo.546288>

Сорокин Н. Д., Гродницкая И. Д., Шапченко О. А., Евграфова С. Ю. Экспериментальная оценка устойчивости почвенного микробиоценоза при химическом загрязнении // Почвоведение. 2009. № 6. С. 701 – 707.

Сулейманов Р. Р., Габбасова И. М., Ситдииков Р. Н. Изменение свойств нефтезагрязнённой серой лесной почвы в процессе биологической рекультивации // Известия РАН. Серия биологическая. 2005. № 1. С. 109 – 115.

Федорец Н. Г., Бахмет О. Н. Экологические особенности трансформации соединений углерода и азота в лесных почвах. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2003. 240 с.

Фокина А. И., Ашихмина Т. Я., Домрачева Л. И., Горностаева Е. А., Огородникова С. Ю. Тяжелые металлы как фактор изменения метаболизма у микроорганизмов (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2015. № 2. С. 5 – 17.

Adesina G. O., Adelasoye K. A. Effect of crude oil pollution on heavy metal contents, microbial population in soil, and maize and cowpea growth // Agricultural Sciences. 2014. Vol. 5, iss. 1. P. 43 – 50. <http://dx.doi.org/10.4236/as.2014.51004>

Bagali S. S. Review: nitrogen fixing microorganisms // International Journal of Microbiological Research. 2012. Vol. 3, iss. 1. P. 46 – 52. <https://doi.org/10.5829/idosi.ijmr.2012.3.1.61103>

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.

Friedlová M. The influence of heavy metals on soil biological and chemical properties // Soil and Water Research. 2010. Vol. 5, iss. 1. P. 21 – 27. <https://doi.org/10.17221/11/2009-SWR>

Fu J., Wang Q., Wang H., Yu H., Zhang X. Monitoring of non-destructive sampling strategies to assess the exposure of avian species in Jiangsu Province, China to heavy metals // Environmental Science and Pollution Research. 2014. Vol. 21, iss. 4. P. 2898 – 2906. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2242-4>

Galitskaya P., Gumerova R., Ratering S., Schnell S., Blagodatskaya E., Selivanovskaya S. Oily waste containing natural radionuclides: does it cause stimulation or inhibition of soil bacterial community? // Journal of Plant Nutrition and Soil Science. 2015. Vol. 178, № 6. P. 825 – 833. <https://doi.org/10.1002/jpln.201400641>

Grzyb A., Wolna-Maruwka A., Niewiadomska A. The significance of microbial transformation of nitrogen compounds in the light of integrated crop management // Agronomy. 2021. Vol. 11, № 7. Article number 1415. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071415>

Hazim R. N., Al-Ani M. A. Effect of petroleum hydrocarbons contamination on soil microorganisms and biodegradation // *Rafidain Journal of Science*. 2019. Vol. 28, iss. 1. P. 13 – 22. <https://doi.org/10.33899/rjs.2019.159391>

Kucharski J., Tomkiel M., Boros E., Wyszowska J. The effect of soil contamination with diesel oil and petrol on the nitrification process // *Journal of Elementology*. 2010. Vol. 15, iss. 1. P. 111 – 118. <https://doi.org/10.5601/jelem.2010.15.1.111-118>

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.

Mustafa A. D., Juahir H., Yunus K., Amran M. A., Hasnam C. N. C., Azaman F., Abidin I. Z., Azmee S. H., Sulaiman N. H. Oil spill related heavy metal: a review // *Malaysian Journal of Analytical Sciences*. 2015. Vol. 19, iss. 6. P. 1348 – 1360.

Rana A., Kumar R. P., Ramakrishnan B. Enzymology of the nitrogen cycle and bioremediation of toxic nitrogenous compounds // *Smart Bioremediation Technologies: Microbial Enzymes* / ed. P. Bhatt. London: Academic Press, 2019. P. 45 – 61. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818307-6.00003-2>

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 Journal of Ecosystems and Ecology Science*. 2014. Vol. 4, iss. 6. P. 251 – 258. <https://doi.org/10.5923/j.ije.20140406.03>

Terekhova V. A., Shitikov V. K., Ivanova A. E., Kydraliev K. A. Assessment of the ecological risk of technogenic soil pollution on the basis of the statistical distribution of the occurrence of micromycete species // *Russian Journal of Ecology*. 2017. Vol. 48, iss. 5. P. 417 – 424. <https://doi.org/10.1134/S1067413617050125>

Wolińska A., Kuźniar A., Szafranek-Nakoneczna A., Jastrzębska N., Roguska E., Stępniewska Z. Biological activity of autochthonic bacterial community in oil-contaminated soil // *Water, Air and Soil Pollution*. 2016. Vol. 227. Article number 130. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-2825-z>

Microbiological assessment of the state of urban soils of the oil and gas region on the example of the territory of Kogalym

Y. V. Pleshakova ^{1✉}, E. V. Glinskaya ¹, A. S. Korobeinikova ¹,
D. M. Golubev ¹, A. Sh. Sheudzhen ², M. V. Reshetnikov ²

¹ Saratov State University

83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

² LLC "LUKOIL-Engineering"

19 Central'naya St., Kogalym 628486, Russia

Received: April 10, 2023 / revised: May 17, 2023 / accepted: May 17, 2023 / published: September 22, 2023

Abstract. In the course of this work, the total numbers of heterotrophic microorganisms and the numbers of microbes participating in the nitrogen cycle (ammonifying, denitrifying, nitrifying and nitrogen-fixing ones) in urban and natural (background) soils of Kogalym were estimated. A relation between the obtained results with geochemical indicators was revealed. Our microbiological analysis showed the predominance of nitrogen-fixing microorganisms in urban soils (5.0×10^4 – 2.0×10^6 CFU/g of soil), which were on average 44 less than in natural soils. In the last ones the average number of denitrifying microorganisms was 7.0×10^4 CFU/g of soil, exceeding 1.3 times their number in urban soils. Based on the information obtained, microbial contents in the soils of Kogalym were established as a row: nitrogen fixators > ammonifiers > heterotrophs > denitrifiers; in background samples: denitrifiers > ammonifiers > heterotrophs > nitrogen fixators. According to the data of ecological and geochemical analysis, an excess of the MPC of mobile forms of heavy metals, such as Cu, Ni and Zn, was revealed in the Eastern Industrial zone of the city. A significant inverse correlation was revealed between the number of denitrifying microorganisms in the Kogalym soil microbiocenoses and the content of mobile Ni and Cu forms, which points to a possible negative effect of these metals on the development of denitrifiers. The minimum number of ammonifying, denitrifying and nitrogen-fixing microorganisms was found in the Eastern Industrial zone, especially in the soil samples that were taken near the railway. On the whole, the absence of noticeable differences in the microorganisms' content of the studied groups in urban and natural soils indicates a low level of soil pollution in Kogalym. The obtained results represent the basis for subsequent ecological monitoring of the soils in the city and adjacent oil-producing areas, forecasting the environmental consequences of anthropogenic activities in these territories.

Keywords: soil pollution, heavy metals, heterotrophic, ammonifying, denitrifying, nitrifying and nitrogen-fixing microorganisms

For citation: Pleshakova Y. V., Glinskaya E. V., Korobeinikova A. S., Golubev D. M., Sheudzhen A. Sh., Reshetnikov M. V. Microbiological assessment of the state of urban soils of the oil and gas region on the example of the territory of Kogalym. *Povolzhskiy Journal of Ecology*, 2023, no. 3, pp. 352–373 (in Russian). <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2023-3-352-373>

✉ Corresponding author. Department of Biochemistry and Biophysics of Saratov State University, Russia.

ORCID and e-mail addresses: Yekaterina V. Pleshakova: <https://orcid.org/0000-0003-3836-0258>, plekat@yandex.ru; Elena V. Glinskaya: <https://orcid.org/0000-0002-1675-5438>, elenavg-2007@yandex.ru; Anastasija S. Korobeinikova: <https://orcid.org/0000-0002-3157-693X>, korobeinikovaanastasija@yandex.ru; Dmitry M. Golubev: <https://orcid.org/0000-0001-9471-6066>, dimagolubev2018@yandex.ru; Aleksandr Sh. Sheudzhen: <https://orcid.org/0000-0002-0000-2909>, Aleksandr.Sheudzhen@luoil.com; Michael V. Reshetnikov: <https://orcid.org/0000-0001-8298-029X>, rmv85@list.ru.

REFERENCES

- Bagaeva T. V., Ionova N. E., Nadeeva G. V. *Mikrobiologicheskaya remediatsiya prirodnikh sistem ot tiazhelykh metallov: uchebno-metodicheskoe posobie* [Microbiological Remediation of Natural Systems from Heavy Metals: Teaching Aid]. Kazan, Kazan University Publ., 2013. 56 p. (in Russian).
- Gabbasova I. M. *Degradatsiya i rekultivatsiya pochv Bashkortostana* [Degradation and Reclamation of Soils in Bashkortostan]. Ufa, Gilem, 2004. 284 p. (in Russian).
- Gennadiyev A. N. Oil and environment. *Bulletin of Moscow University, Series 5: Geography*, 2016, no. 6, pp. 30–39 (in Russian).
- GN 2.1.7.2041-06. *Maximum Permissible Concentrations (MPC) and Approximate Permissible Concentrations (MPC) of Chemicals in the Soil: Hygienic standards*. Moscow, Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor Publ., 2006. 15 p. (in Russian).
- GOST 17.4.4.02-84. *Protection of Nature. The Soils. Methods of Sampling and Sample Preparation for Chemical, Bacteriological, Helminthological Analysis: Interstate Standards*. Moscow, Standardinform Publ., 2008. 8 p. (in Russian).
- Evdokimova G. A. *Ekologo-mikrobiologicheskie osnovy okhrany pochv Krainego Severa* [Ecological and Microbiological Bases of Soil Protection in the Far North]. Apatity, Kola Scientific Center of the Russian Academy of Sciences Publ., 1985. 272 p. (in Russian).
- Evdokimova G. A. Soil microbiota as a factor in soil resistance to pollution. *Theoretical and Applied Ecology*, 2014, no. 2, pp. 17–24 (in Russian).
- Eremchenko O. Z., Shestakov I. E., Kamenshchikova V. I. Ecological and biological properties of urbanozems in Perm. *Bulletin of the Udmurt University. Biology, Earth Sciences*, 2010, iss. 4, pp. 56–62 (in Russian).
- Elin E. S. Biogeochemical transformation of oil – a pollutant and swamp biogeocenosis during their interaction. *Bulletin of Ecology, Forest Science and Landscape Science*, 2002, no. 3, pp. 153–166 (in Russian).
- Zhuravleva A. S., Labutova N. M., Andronov E. E. Influence of oil pollution on the microbiocenosis of soils adjacent to the oil storage. *Ecological Genetics*, 2017, no. 4, pp. 60–68 (in Russian). <https://doi.org/10.17816/ecogen15460-68>
- Zagural'skaia L. M. *Microbial Transformation of Organic Matter in Forest Soils of Karelia*. Saint Petersburg, Nauka, 1993. 136 p. (in Russian).
- Zviagintsev D. G. Biological activity of soils and scales for assessing some of its indicators. *Pochvovedenie*, 1978, no. 6, pp. 48–54 (in Russian).
- Zviagintsev D. G. *Pochva i mikroorganizmy* [Soil and Microorganisms]. Moscow, Moscow State University Press, 1987. 256 p. (in Russian).
- Kolesnikov S. I., Kazeev K. Sh., Veligonova N. V., Patrusheva E. V., Aznaur'ian D. K., Val'kov V. F. Changes in the complex of soil microorganisms under the contamination of common chernozem with oil and oil products. *Agrokimiya*, 2007, no. 12, pp. 44–48 (in Russian).
- Korshunova T. Iu., Chetverikov S. P., Bakaeva M. D., Kuzina E. V., Rafikova G. F., Chetverikova D. V., Loginov O. N. Microorganisms in the aftermath of oil pollution. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2019, vol. 55, no. 4, pp. 338–349 (in Russian). <https://doi.org/10.1134/S0555109919040093>
- Kuznetsov A. V., Fesiun A. P., Samokhvalov S. G., Makhonko E. P. *Metodicheskie ukazaniya po opredeleniyu tiazhelykh metallov v pochvakh sel'khozugodii i produkcii rastenievodstva* [Methodological Guidelines for the Determination of Heavy Metals in the Soils of Agricultural Land and Crop Products]. Moscow, Central Institute of Agrochemical Service for Agriculture Publ., 1992. 61 p. (in Russian).
- Kutovaya O. V., Tkhakakhova A. K., Semenov M. V., Chernov T. I., Ksenofontova N. A., Zhelezova A. D., Gadzhumarov R. G., Stukalov R. S., Ivanova E. A., Nikitin D. A. Comparative

evaluation of the influence of no-till and traditional treatment on the biological activity of agricultural chernozem of the Stavropol region. *Dokuchaev Soil Bulletin*, 2019, no. 100, pp. 159–189 (in Russian). <https://doi.org/10.19047/0136-1694-2019-100-159-189>

Makarov O. A., Makarov A. A. Approaches to assessing the risk of chemical pollution of urban soils. *Pochvovedenie*, 2016, no. 9, pp. 1147–1156 (in Russian). <https://doi.org/10.7868/S0032180X16090094>

Malykhina L. V., Shaydullina I. A., Antonov N. A., Sibgatova D. I., Yapparov A. Kh., Degtyareva I. A., Latypova V. Z., Gadieva E. Sh. Application of new biotechnologies in the remediation of black soil with mixed pollution. *Georesursy*, 2016, vol. 18, no. 2, pp. 138–144 (in Russian).

Melekhina E. N., Markarova M. Yu., Schemelinina T. N., Anchugova E. M., Kanev V. B. Restoration succession biota in peat soil with oil contamination with different methods of biological remediation. *Pochvovedenie*, 2015, no. 6, pp. 740–750 (in Russian). <https://doi.org/10.7868/S0032180X15060076>

Mishustin E. N. *Assotsiatsiia pochvennykh mikroorganizmov* [Association of Soil Microorganisms]. Moscow, Nauka, 1975. 114 p. (in Russian).

Mynbaeva B. N., Seylova L. B., Voronova N. V., Muzdybaeva K. K., Amirashev B. A., Imanbekova T. G. Microbiological indication of soils of Almaty contaminated with heavy metals. *Interactive Journal of Ecological Soil Science*, 2013, no. 1, iss. 18, pp. 176–184 (in Russian).

Naprasnikova E. V., Makarova A. P. Ecological-microbiological and biochemical characteristics of soil cover under conditions of airborne technogenic pollution. *Proceedings of Irkutsk State University, Series: Biology. Ecology*, 2012, vol. 5, no. 2, pp. 19–26 (in Russian).

National Soil Atlas of the Russian Federation. Moscow, Astrel, 2011. 632 p. (in Russian).

Netrusov A. I., Egorova M. A., Zakharchuk L. M. *Praktikum po mikrobiologii* [Practicum in Microbiology]. Moscow, Academy, 2005. 608 p. (in Russian).

Rakhimova E. R., Osipova A. L., Zaripova S. K. Purification of soil from oil pollution using denitrifying hydrocarbon-oxidizing microorganisms. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2004, vol. 40, no. 6, pp. 649–653 (in Russian).

RD 52.18.191-89. *Methods for Measuring the Mass Fraction of Acid Soluble Forms of Metals (Copper, Lead, Zinc, Nickel, Cadmium) in Soil Samples by Atomic Absorption Analysis*. Moscow, State Committee on Hydrometeorology of the USSR Publ., 1990. 32 p. (in Russian).

Rogozina E. A., Shimansky V. K. Models of changes of soil ecosystems under the action of hydrocarbon pollution. *Neftegazovaya Geologiya. Teoriya i Praktika*, 2007, no. 2, pp. 27–43 (in Russian).

Saxonov M. N., Abalakov A. D., Danko L. V., Barkhatova O. A., Balayan A. E., Stom D. I. *Ekologicheskii monitoring neftegazovoi otrasli. Fiziko-khimicheskie i biologicheskie metody: uchebnoe posobie* [Ecological Monitoring of Oil and Gas Industry. Physico-chemical and Biological Methods: Textbook]. Irkutsk, Irkutsk State University Publ., 2005. 114 p. (in Russian).

SanPiN 42-128-4433-87 “Sanitary Norms of Permissible Concentrations of Chemical Substances in Soils” approved by the Deputy Chief State Sanitary Doctor of the USSR, 30.10.88 № 4433-87; revised from 07.02.99. Moscow, 1999. 25 p. (in Russian).

Seredina V. P., Kolesnikova E. V., Kondykov V. A., Nepotrebnii A. I., Ognev S. A. Features of the Impact of oil pollution on the soils of the middle taiga of Western Siberia. *Neftyanoe khozyaystvo*, 2017, no. 5, pp. 108–112 (in Russian). <https://doi.org/10.24887/0028-2448-2017-5-108-112>

Sokolov S. S., Storchak T. V., Tikhomirov Y. N. Development of information-analytical system of environmental monitoring for tracking the current state of the environment in the territory of oil fields. *Bulletin of Science and Practice*, 2017, no. 4 (17), pp. 170–183 (in Russian). <https://doi.org/10.5281/zenodo.546288>

Sorokin N. D., Grodnitskaya I. D., Shapchenkova O. A., Evgrafova S. Y. Experimental evaluation of soil microocenosis stability under chemical pollution. *Pochvovedenie*, 2009, no. 6, pp. 701–707 (in Russian).

Suleimanov R. R., Gabbasova I. M., Sitdikov R. N. Changes in the properties of oily gray forest soil during biological reclamation. *Biology Bulletin*, 2005, vol. 32, no. 1, pp. 93–99.

Fedorets N. G., Bakhmet O. N. *Ekologicheskie osobennosti transformatsii soedinenii ugleroda i azota v lesnykh pochvakh* [Ecological Peculiarities of Transformation of Carbon and Nitrogen Compounds in Forest Soils]. Petrozavodsk, Karelian Research Center of the Russian Academy of Sciences Publ., 2003. 240 p. (in Russian).

Fokina A. I., Ashikhmina T. Y., Domracheva L. I., Gornostaeva E. A., Ogorodnikova S. Yu. Heavy metals as a factor of metabolic changes in microorganisms (Review). *Theoretical and Applied Ecology*, 2015, no. 2, pp. 5–17 (in Russian).

Adesina G. O., Adelasoye K. A. Effect of crude oil pollution on heavy metal contents, microbial population in soil, and maize and cowpea growth. *Agricultural Sciences*, 2014, vol. 5, iss. 1, pp. 43–50. <http://dx.doi.org/10.4236/as.2014.51004>

Bagali S. S. Review: nitrogen fixing microorganisms. *International Journal of Microbiological Research*, 2012, vol. 3, iss. 1, pp. 46–52. <https://doi.org/10.5829/idosi.ijmr.2012.3.1.61103>

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.

Friedlová M. The influence of heavy metals on soil biological and chemical properties. *Soil and Water Research*, 2010, vol. 5, iss. 1, pp. 21–27. <https://doi.org/10.17221/11/2009-SWR>

Fu J., Wang Q., Wang H., Yu H., Zhang X. Monitoring of non-destructive sampling strategies to assess the exposure of avian species in Jiangsu Province, China to heavy metals. *Environmental Science and Pollution Research*, 2014, vol. 21, iss. 4, pp. 2898–2906. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2242-4>

Galitskaya P., Gumerova R., Ratering S., Schnell S., Blagodatskaya E., Selivanovskaya S. Oily waste containing natural radionuclides: does it cause stimulation or inhibition of soil bacterial community? *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2015, vol. 178, no. 6, pp. 825–833. <https://doi.org/10.1002/jpln.201400641>

Grzyb A., Wolna-Maruwka A., Niewiadomska A. The significance of microbial transformation of nitrogen compounds in the light of integrated crop management. *Agronomy*, 2021, vol. 11, no. 7, article number 1415. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071415>

Hazim R. N., Al-Ani M. A. Effect of petroleum hydrocarbons contamination on soil microorganisms and biodegradation. *Rafidain Journal of Science*, 2019, vol. 28, iss. 1, pp. 13–22. <https://doi.org/10.33899/rjs.2019.159391>

Kucharski J., Tomkiel M., Boros E., Wyszowska J. The effect of soil contamination with diesel oil and petrol on the nitrification process. *Journal of Elementology*, 2010, vol. 15, iss. 1, pp. 111–118. <https://doi.org/10.5601/jelem.2010.15.1.111-118>

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.

Mustafa A. D., Juahir H., Yunus K., Amran M. A., Hasnam C. N. C., Azaman F., Abidin I. Z., Azmee S. H., Sulaiman N. H. Oil spill related heavy metal: a review. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 2015, vol. 19, iss. 6, pp. 1348–1360.

Rana A., Kumar R. P., Ramakrishnan B. Enzymology of the nitrogen cycle and bioremediation of toxic nitrogenous compounds. In: P. Bhatt, ed. *Smart Bioremediation Technologies: Microbial Enzymes*. London, Academic Press, 2019, pp. 45–61. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818307-6.00003-2>

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ГОРОДСКИХ ПОЧВ

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, pp. 24–38.

Sumampouw O. J., Risjani Y. Bacteria as indicators of environmental pollution: Review. *International Journal of Ecosystems and Ecology Science*, 2014, vol. 4, iss. 6, pp. 251–258. <https://doi.org/10.5923/j.ije.20140406.03>

Terekhova V. A., Shitikov V. K., Ivanova A. E., Kydralieva K. A. Assessment of the ecological risk of technogenic soil pollution on the basis of the statistical distribution of the occurrence of micromycete species. *Russian Journal of Ecology*, 2017, vol. 48, iss. 5, pp. 417–424. <https://doi.org/10.1134/S1067413617050125>

Wolińska A., Kuźniar A., Szafranek-Nakonieczna A., Jastrzębska N., Roguska E., Stępniewska Z. Biological activity of autochthonic bacterial community in oil-contaminated soil. *Water, Air and Soil Pollution*, 2016, vol. 227, article number 130. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-2825-z>