



МЕТОДЫ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Методы экологических исследований / Methods of environmental studies

Оригинальная статья / Original article

УДК 504.064:631.46

DOI: 10.18470/1992-1098-2017-2-135-146

АНАЛИЗ ПОЧВЫ В РАЙОНЕ ПОДЗЕМНОГО ХРАНИЛИЩА ПРИРОДНОГО ГАЗА ПО ИНДИКАТОРНЫМ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ

Екатерина В. Плешакова, Клемент Т. Нгун, Михаил В. Решетников*

*Саратовский национальный исследовательский
государственный университет имени Н.Г. Чернышевского,
Саратов, Россия, plekat@yandex.ru*

Резюме. Цель. Биодиагностика почвы, отобранной в районе подземного хранилища природного газа (ПХГ) (пос. Степное, Саратовская область), с помощью микробиологического анализа. **Методы.** В ходе работы высевом на плотные питательные среды (методом Коха) оценивали: общую численность гетеротрофных микроорганизмов – на мясо-пептонном агаре, количество метилотрофных, углеводородокисляющих, железоокисляющих и сероокисляющих бактерий на соответствующих селективных средах; а также – водородный показатель, окислительно-восстановительный потенциал и магнитную восприимчивость почвы. **Результаты.** Микробиологический анализ почвы в районе Степновского ПХГ продемонстрировал изменения в почвенных биоценозах. Обнаружено пониженное содержание гетеротрофных микроорганизмов по сравнению с фоновыми пробами. В ряде образцов отмечено повышенное содержание углеводородокисляющих и метилотрофных микроорганизмов, в том числе, облигатных, что позволяет говорить о поступлении метана в верхние слои почвы. Выявлено повышенное содержание сероокисляющих бактерий; показано наличие в почве железоокисляющих микроорганизмов. **Выводы.** Обнаруженные особенности в содержании индикаторных микроорганизмов в почве в зоне подземного хранилища природного газа, свидетельствующие о развитии специализированных почвенных микроорганизмов, подтверждали наличие загрязнителей в почве – углеводов и соединений серы. Использование индикаторных микробиологических показателей представляется перспективным для экологического мониторинга почв в районах газовых хранилищ, своевременного выявления утечки метана.

Ключевые слова: подземное хранилище природного газа, гетеротрофные, метилотрофные, углеводородокисляющие, железоокисляющие, сероокисляющие микроорганизмы.

Формат цитирования: Плешакова Е.В., Нгун К.Т., Решетников М.В. Анализ почвы в районе подземного хранилища природного газа по индикаторным микробиологическим показателям // Юг России: экология, развитие. 2017. Т.12, N2. С.135-146. DOI: 10.18470/1992-1098-2017-2-135-146

SOIL ANALYSIS ON MICROBIOLOGICAL INDICATOR VALUES IN THE AREA OF UNDERGROUND NATURE GAS STORAGE

Ekaterina V. Pleshakova, Clement T. Ngun, Mikhail V. Reshetnikov*

*National Research Saratov State University named after N.G. Chernyshevsky,
Saratov, Russia, plekat@yandex.ru*



Abstract. The *aim* is to conduct the biodiagnosis of soil sampled in the area of the underground storage of natural gas (UGS) (Stepnoye village, Saratov region) with the use of microbiological analysis. **Methods.** In the course of the work, using Koch's solid medium method were estimated the following: the total number of heterotrophic microorganisms on meat peptone agar, amount of methylotrophic, hydrocarbon oxidizing, iron-oxidizing and sulfur-oxidizing bacteria in the respective selective mediums; as well as the hydrogen index, oxidation-reduction potential and magnetic susceptibility of the soil. **Results.** Microbiological analysis of the soil in the Stepnovsky UGS area has shown changes in soil biocenoses. A reduced content of heterotrophic microorganisms was detected in comparison with background samples. In a number of samples, we also discovered an increased content of hydrocarbon-oxidizing and methylotrophic microorganisms, including obligate ones, which suggest the methane entering the upper layers of the soil. An increased content of sulfur-oxidizing bacteria was also detected; the presence of iron-oxidizing microorganisms in the soil was shown. **Conclusions.** The revealed features in the content of indicator microorganisms in the soil sampled in the area of the underground storage of natural gas, indicating the development of specialized soil microorganisms, confirmed the presence of contaminants in the soil which are hydrocarbons and sulfur compounds. The use of microbiological indicator values seems promising for environmental monitoring of soils in the areas of gas storage and early detection of methane leakage.

Keywords: underground storage of natural gas, heterotrophic, methylotrophic, hydrocarbon oxidizing, iron oxidizing, sulfur oxidizing microorganisms.

For citation: Pleshakova E.V., Ngun C.T., Reshetnikov M.V. Soil analysis on microbiological indicator values in the area of underground nature gas storage. *South of Russia: ecology, development*. 2017, vol. 12, no. 2, pp. 135-146. (In Russian) DOI: 10.18470/1992-1098-2017-2-135-146

ВВЕДЕНИЕ

Добыча, транспортировка и хранение нефтепродуктов и природного газа приводит к загрязнению окружающей среды. Почва над подземными хранилищами газа (ПХГ) может подвергаться загрязнению углеводородами [1] и другими токсичными соединениями, которые негативно влияют на функционирование почвенных биocenozов. Происходят качественные и количественные изменения почвенной микрофлоры, как на популяционном уровне, так и на уровне микробной клетки [2].

Было установлено, что одной из основных причин загрязнения и деградации почв в районах ПХГ является миграция газа из них вплоть до дневной поверхности, что связано с формированием зон горизонтальной и вертикальной трещиноватости пород осадочного чехла в обычных платформенных структурах, используемых для создания ПХГ [3]. Несовершенство ряда технологических операций в плане экологической защиты почв и нарушения правил охраны окружающей среды при их выполнении также приводят к загрязнению почв на территории ПХГ. Показано, что вследствие утечки газа вокруг искусственных газовых залежей могут формироваться газовые, битуминологические и

бактериальные аномалии [4]. В водоносных горизонтах, породах и почвах газовых хранилищ среди углеводородных газов превалирует метан. В летний период наблюдается снижение концентраций газов, что связано с развитием углеводородокисляющей микрофлоры, в том числе, метаноокисляющих бактерий [5; 6]. В осенний период снова наблюдается быстрое накопление метана, в результате чего основной негативный «пресс» приходится в первую очередь на органические горизонты и выражается в существенном, а иногда и полном нарушении свойств и функций почв [1]. Поэтому в районах ПХГ существует необходимость регулярного проведения почвенно-экологического мониторинга для оценки качества окружающей среды.

Наряду с анализами, предусматривающими оценку депонирующих свойств почв и пород, качественную и количественную оценку содержания метана и углекислого газа в свободном почвенном воздухе, установление параметра интенсивности бактериального окисления метана [5] и др., важной составляющей экологического мониторинга почв в районах ПХГ, на наш взгляд, является анализ индикаторных микробиологических показателей. Существует несколько методов



логических подходов к оценке экологического состояния почв, и среди них, микробиологический является наиболее чувствительным. Микробиота полифункциональна, и, участвуя в противоположных реакциях, осуществляет стабилизирующую функцию метаболического равновесия в природе. Благодаря большой поверхности контакта со средой, микроорганизмы очень чувствительны к меняющимся условиям существования, а высокая скорость размножения дает возможность в короткий срок выявлять изменения, которые возникают под влиянием экологических факторов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования явились пробы темно-каштановой почвы, отобранные на территории Степновского подземного хранилища природного газа (Саратовская обл.) в 2013-2014 гг. Пробы почвы отбирали на глубине 5-10 см методом «конверта». На рис. 1 представлена карта исследованной территории с точками отбора проб почвы. Контрольные (фоновые) пробы отбирали за пределами хранилища на удалении от зоны влияния ПХГ примерно в 5-6 км.

Оценку общей численности гетеротрофных микроорганизмов производили на МПА (Difco) общепринятыми бактериологическими методами [7]. Количество углеводородокисляющих микроорганизмов оценивали на агаризованной минеральной среде М9, г/л: Na_2HPO_4 – 6,0; KH_2PO_4 – 3,0; NaCl – 0,5; NH_4Cl – 1,0; pH 7,0 с вазелиновым маслом (1%) в качестве единственного источника углерода и энергии [8]; метилотрофных бактерий – на минеральной среде Хирша, г/л: KH_2PO_4 – 1,36; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 2,13; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,5; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,2; $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,005; $\text{MnSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,0025; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,0025; pH 7,0 с метанолом (0,4%) в качестве единственного источника углерода и энергии [9]. Учет численности нейтрофильных железобактерий проводили на агаризованной селективной среде следующего состава, г/л: $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 5,9; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,5; NaNO_3 – 0,5; K_2HPO_4 – 0,5; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5; лимонная кислота – 10,0; сахароза – 2,0; пептон – 1,0; pH 7,0 [10].

Для оценки численности нитчатых серобактерий рода *Thiothrix* использовали ага-

В связи с вышесказанным, целью настоящего исследования явилась биодиагностика почвы, отобранной в районе Степновского подземного хранилища природного газа (Саратовская обл.), с помощью микробиологического анализа. В ходе работы оценивали: общую численность гетеротрофных микроорганизмов, количество метилотрофных, углеводородокисляющих, железобактерий и серобактерий; а также – водородный показатель, окислительно-восстановительный потенциал и магнитную восприимчивость почвы.

ризованную среду Армбрустера следующего состава, г/л: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,5; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,05; K_2HPO_4 – 0,11; KH_2PO_4 – 0,085; $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,002; ЭДТА – 0,003; $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,5; лактат натрия – 0,5; раствор витаминов – 1 мл; pH 7,2-7,5 [11]. Раствор витаминов, г/л: биотин – 0,2; фолиевая кислота – 0,02; пиридоксин – 0,1; рибофлавин – 0,1; никотиновая кислота – 0,05; тиамин – 0,05; цианокобаламин – 0,001; пантотеновая кислота – 0,05; *п*-аминобензойная кислота – 0,05. Тиосульфат натрия, лактат натрия, витамины добавляли в виде стерильных растворов перед посевом.

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 подсчет выросших колоний через 3-5 сут. культивирования в термостате при температуре 28-30°C. Высевы на МПА и на селективные среды для учета численности метилотрофных, углеводород-, серо- и железобактерий производили из разведений 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} в нескольких повторностях. Все данные по численности микроорганизмов были пересчитаны на воздушно-сухие образцы.

В почвенных пробах измеряли водородный показатель, окислительно-восстановительный потенциал и магнитную восприимчивость (табл. 1). Магнитная восприимчивость почвы определялась в лабора-

торных условиях при помощи серийного каппаметра КТ-10 [12].

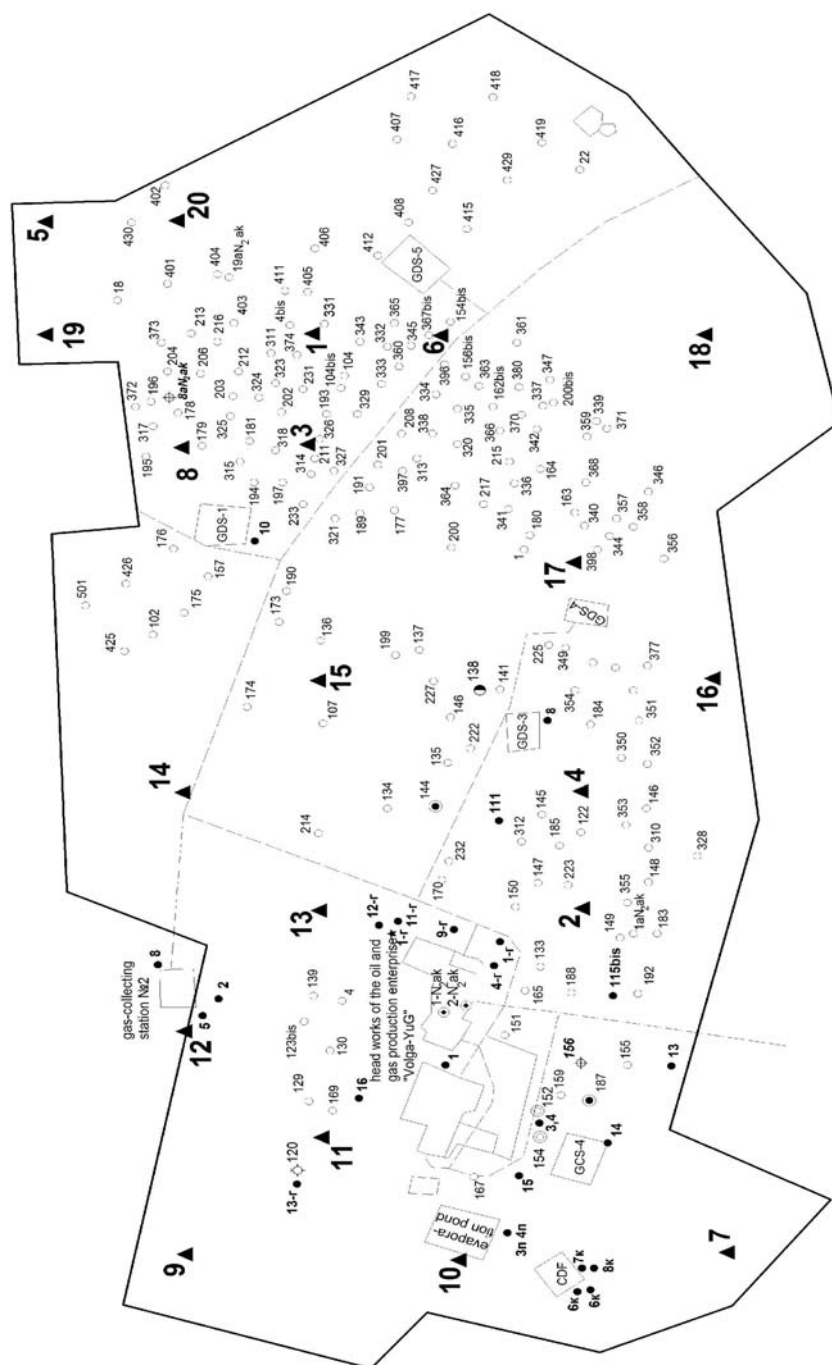


Рис. 1. Карта отбора проб почвы над подземным хранилищем газа (пос. Степное, Саратовская обл.)
Fig. 1. Map of on-the-ground soil sampling in the underground gas storage area
(Stepnoye village, Saratov region)

В каждой пробе проводился десятикратный замер магнитной восприимчивости, в качестве основного значения принималось среднеарифметическое значение по результатам 10-ти измерений. Измерение термомагнитного эффекта (dk) или термокаппаметрический анализ заключался в измерении прироста магнитной восприимчивости об-

разцов после их нагрева на 500°C в окислительной среде по формуле ($dk=kt-k$, где k – магнитная восприимчивость, kt – магнитная восприимчивость после нагрева).

Приrost осуществляется за счет превращения изначально немагнитного пирита в сильномагнитный магнетит. Сходным эффектом, кроме пирита, обладают и магнит-



ные сульфиды железа (типа пирротина, грейгита), и сидерит, но для вполне однозначной интерпретации термокаппаметрических данных, как правило, достаточно сведений о

значениях исходной магнитной восприимчивости [12].

Таблица 1

Физико-химические показатели исследованных образцов почвы

Table 1

Physicochemical parameters of the studied soil samples

Номер пробы Sample №	pH	Eh, мВ Eh, mV	kappa (10 ⁻⁵ ед. СИ) kappa (10 ⁻⁵ units SI)	dk
1	7,86	-27,5	38,1	2,9
2	7,69	-19,2	45	1,8
3	6,72	33,5	33,3	2,9
4	7,55	-11,2	29,7	2,3
5	6,94	21,1	75,8	4,5
6	7,87	-28,7	57,2	3,2
7	7,16	9,9	59,3	3,2
8	7,99	-34,4	51,1	3,4
9	7,18	8,9	45,7	3,6
10	7,21	7,00	52,1	3,6
11	7,56	-11,60	51,9	3,6
12	7,97	-33,50	39,8	2,9
13	7,88	-26,60	47,8	3,1
14	7,70	-19,00	51,7	3,0
15	6,88	24,90	53,3	3,5
16	7,56	-11,50	46,2	3,8
17	7,95	-32,30	41,5	3,4
18	7,88	-28,50	58,3	2,9
19	7,87	-28,10	70,8	4,4
20	8,16	-43,40	58,8	3,9

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с применением пакета прикладных программ Microsoft Excel 2010 (для Windows XP). До-

стоверными считали различия при вероятности ошибки $p < 0,05$ (95% доверительный интервал).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ряде работ было показано, что почвенный покров на объектах подземного хранения природного газа выступает в качестве вертикальной и горизонтальной мембраны, экранирующей и утилизирующей газообразные углеводороды [13; 14], которые по имеющейся системе вертикальной и горизонтальной трещиноватости геологической толщи устремляются к поверхности. Углеводородные газы и продукты их микробиологической трансформации в почве газоносных территорий способствуют формированию органического углерода и азота, а также раз-

личным изменениям в микробоценозах почв, например, увеличению биомассы метилотрофных микроорганизмов.

Проведенный нами микробиологический анализ показал, что общая численность гетеротрофных микроорганизмов варьировала в исследованных двадцати пробах почвы, отобранных на территории ПХГ. В большинстве образцов количество гетеротрофных микроорганизмов составляло от 6 до 26×10^5 КОЕ/г почвы (рис. 2).

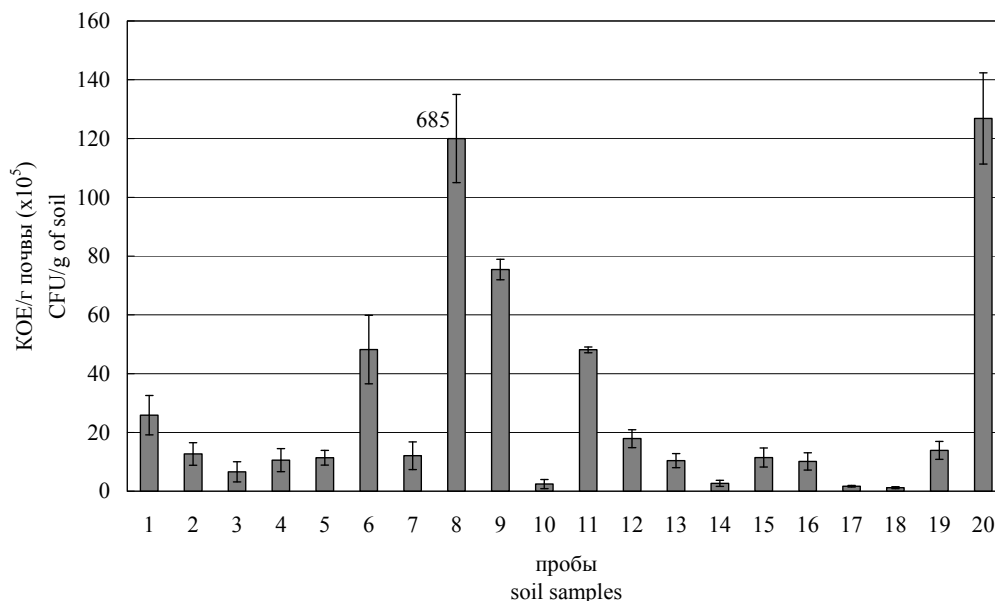


Рис. 2. Общая численность гетеротрофных микроорганизмов в пробах почвы
Fig. 2. Total number of heterotrophic microorganisms in soil samples

В четырех образцах (№ 10, 14, 17 и 18) было несколько ниже – около 2×10^5 КОЕ/г почвы. В пробах № 6, 9 и 11 – от 48 до 75 КОЕ/г почвы. И, наконец, два образца почвы отличались высокой численностью гетеротрофных бактерий, на 1-2 порядка выше, чем в других пробах, в образце № 20 она составляла 127×10^5 КОЕ/г почвы, №8 – 685×10^5 КОЕ/г почвы, что может быть связано с высоким уровнем загрязнения почвы органическими соединениями в данных точках отбора.

Общая численность гетеротрофных микроорганизмов в контрольных пробах почвы, отобранных за пределами ПХГ, варьируя от 32 до 240×10^5 КОЕ/г почвы, в целом, была выше, чем в пробах почвы на территории хранилища газа.

В связи с особенностями данной территории мы оценивали также численность культивируемых аэробных углеводородокисляющих и метилотрофных микроорганизмов в почве над ПХГ. Различий по численности углеводородокисляющих бактерий в почвенных образцах было меньше, их содержание в среднем было от 1 до 40×10^5 КОЕ/г почвы (рис. 3). Количество углеводородокисляющих

микроорганизмов было высоким лишь в образце № 20 – 173×10^5 КОЕ/г почвы.

Сравнивая количество гетеротрофных и углеводородокисляющих бактерий в пробах, можно отметить, что в пяти из них содержание углеводородокисляющих микроорганизмов было выше, чем гетеротрофных. Такое повышенное содержание углеводородокисляющей микрофлоры в почве, вероятно, связано с селективным воздействием соответствующих субстратов. Поэтому выявленные особенности могут косвенно свидетельствовать о присутствии в почве углеводородов.

Численность метилотрофных микроорганизмов находилась в диапазоне от 1 до 60×10^5 КОЕ/г почвы в разных образцах (рис. 4). Количество метилотрофных бактерий было повышенным в образце № 20 – 154×10^5 КОЕ/г почвы. При сравнении количества гетеротрофных и метилотрофных бактерий в пробах обнаружено, что в пяти из них (№ 3, 5, 7, 17, и 20) содержание метилотрофных микроорганизмов было выше, чем гетеротрофных. Из них 4 образца – это №3, 7, 17 и 20 также характеризовались и более высокой численностью углеводородокисляющих бактерий.

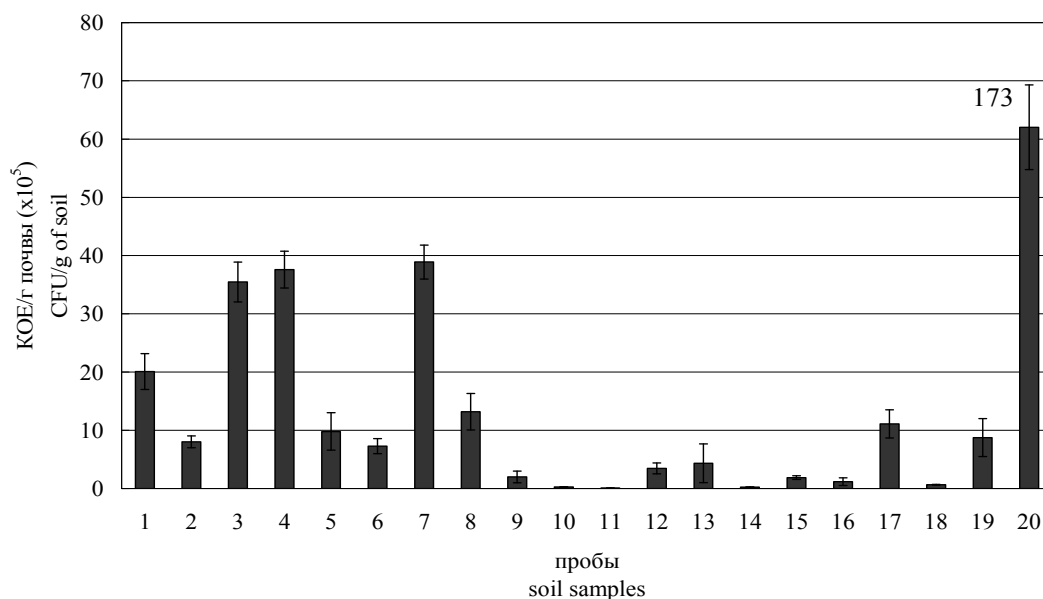


Рис. 3. Численность углеводородокисляющих микроорганизмов в пробах почвы
Fig. 3. Number of hydrocarbon oxidizing microorganisms in soil samples

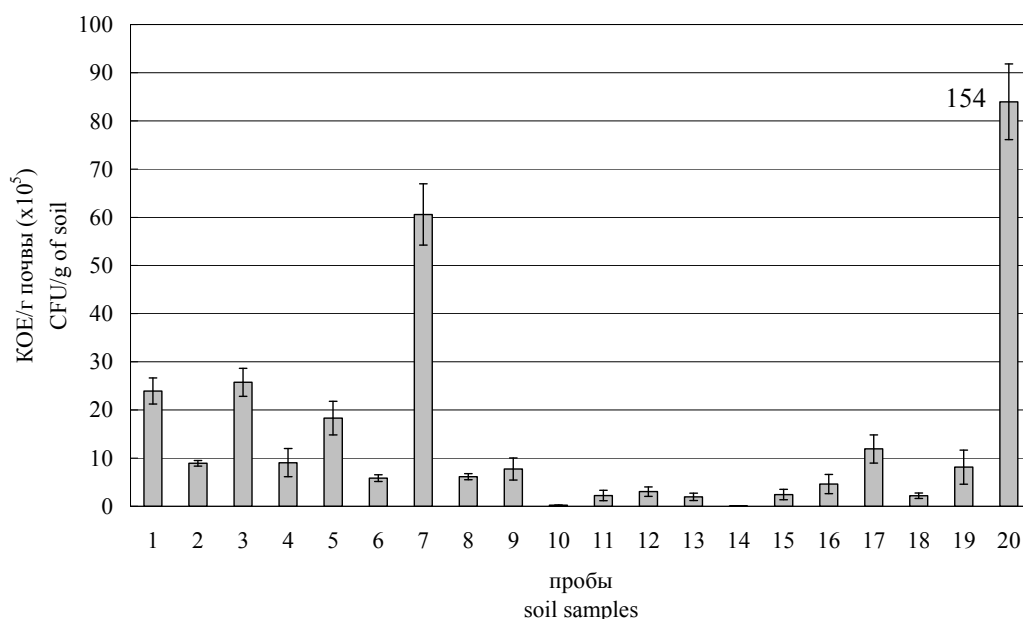


Рис. 4. Численность метилотрофных микроорганизмов в пробах почвы
Fig. 4. Number of methylotrophic microorganisms in soil samples

Выявлена прямая корреляция между численностью метилотрофных и численностью углеводородокисляющих микроорганизмов. Коэффициент корреляции (R^2) составил 0,967. Обращает на себя внимание тот факт, что в почвенных пробах №5, 7, 9 и 16

количество метилотрофных микроорганизмов было выше, чем углеводородокисляющих (в среднем в 2 раза), что свидетельствует о развитии в почве не только факультативных метилотрофов, но и облигатных. Это является косвенным доказательством нали-



чия метана в верхнем горизонте почвы над подземным хранилищем газа.

В последние годы в рамках почвенно-экологического мониторинга промышленных и индустриальных ландшафтов исследователи проводят магнитные измерения почв, которые являются доступными экспрессными методами анализа для предварительного обследования урбанизированных территорий [15; 16]. Одной из важных магнитных характеристик почв является магнитная восприимчивость – физическая величина, отражающая способность почвенного вещества менять магнитный момент при воздействии внешнего магнитного поля. Наибольший вклад в магнитные свойства почв оказывает магнетит. Известно, что над подземными искусственными газовыми залежами в зонах рассеяния и доминирующего влияния углеводородных газов преобладают природные почвы с техногенно-педогенными признаками – новообразованиями микродисперсного бактериоморфного магнетита [12]. В процессе синтеза магнетита образуются железоорганические комплексы, в разложении кото-

рых активно участвуют бактерии, осуществляющие распад сложного органического вещества, сопровождающийся освобождением энергии.

В почвенных пробах, отобранных в районе ПХГ, нами были определены значения магнитной восприимчивости и термомагнитного эффекта (табл. 1). Данные показатели соответствовали нормальным значениям для темно-каштановой почвы, указывая на отсутствие выраженной техногенной трансформации, в то же время, не исключая наличие повышенного содержания железа, синтезируемого биогеохимическим путем, в пробах с более высокими значениями магнитной восприимчивости.

Учитывая вышесказанное, для мониторингового микробиологического анализа почвы в районе ПХГ нами был выбран еще один показатель – численность железоокисляющих бактерий. Количество железоокисляющих микроорганизмов в большинстве из 9-ти изученных почвенных образцов находилось в диапазоне от 1 до 3×10^5 КОЕ/г почвы (рис. 5).

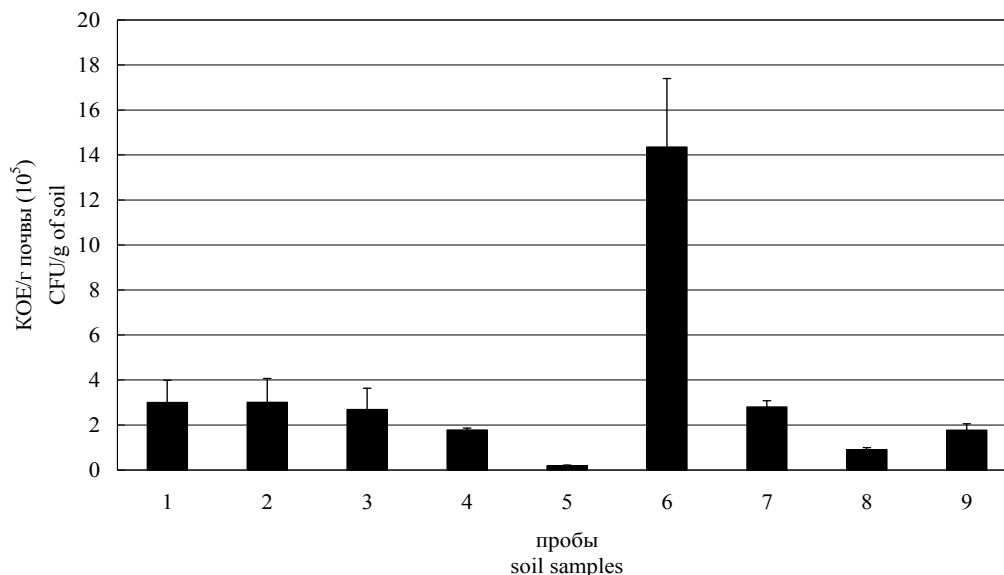


Рис. 5. Численность железоокисляющих микроорганизмов в пробах почвы
Fig. 5. Number of iron-oxidizing microorganisms in soil samples

Выделялась проба № 5 с пониженным содержанием железоокисляющих микроорганизмов, которая была отобрана на границе территории ПХГ. В пробе № 6 наблюдалось повышенное содержание железоокисляющих

микроорганизмов. Этот образец был отобран непосредственно над стволом основной газовой скважины рядом с газораспределительной станцией. Не исключено, что именно в



том месте могли сформироваться скопления бактериоморфного магнетита.

В контрольных образцах почв численность метилотрофных была ниже, чем в почве на территории хранилища, количество углеводородоксиляющих и железооксиляющих бактерий находилась в широком диапазоне и, в среднем, не отличалась от значений в почве над ПХГ.

К токсичным компонентам нефти относят серосодержащие соединения, которые чрезвычайно устойчивы в окружающей среде, что представляет опасность для человека и животных. Известно, что продукция нефтяных месторождений карбона, как правило, содержит сероводород, а пластовые воды девонских отложений – соли железа. В районах разрабатываемых газовых и нефтяных месторождений показано повышенное содержание сульфидов железа, увеличение содержания серооксиляющих микроорганизмов и снижение окислительно-восстановительного потенциала в почвенном

профиле по сравнению с фоновыми почвами [17].

В ряде исследованных проб почвы, отобранных в районе Степновского ПХГ, было обнаружено повышенное содержание сульфида железа. В связи с этим, мы предположили, что в почве на территории ПХГ может наблюдаться повышенное содержание серооксиляющих бактерий. Численность серооксиляющих бактерий исследовали в почвенных образцах № 10-20 (рис. 6). В пробах № 10, 11, 14 и 16 количество серооксиляющих бактерий находилось в пределах от 4 до 26×10^3 КОЕ/г почвы. В пробах 18, 19 и 20 – было чуть меньше. Низким содержанием серооксиляющих бактерий отличались пробы № 12, 13 и 15 (<100 КОЕ/г почвы). Максимальное количество серооксиляющих микроорганизмов обнаруживалось в образце № 17 – $82,2 \times 10^3$ КОЕ/г почвы. В контрольных пробах почвы, которые были отобраны за пределами Степновского ПХГ, серооксиляющие бактерии не выявлялись.

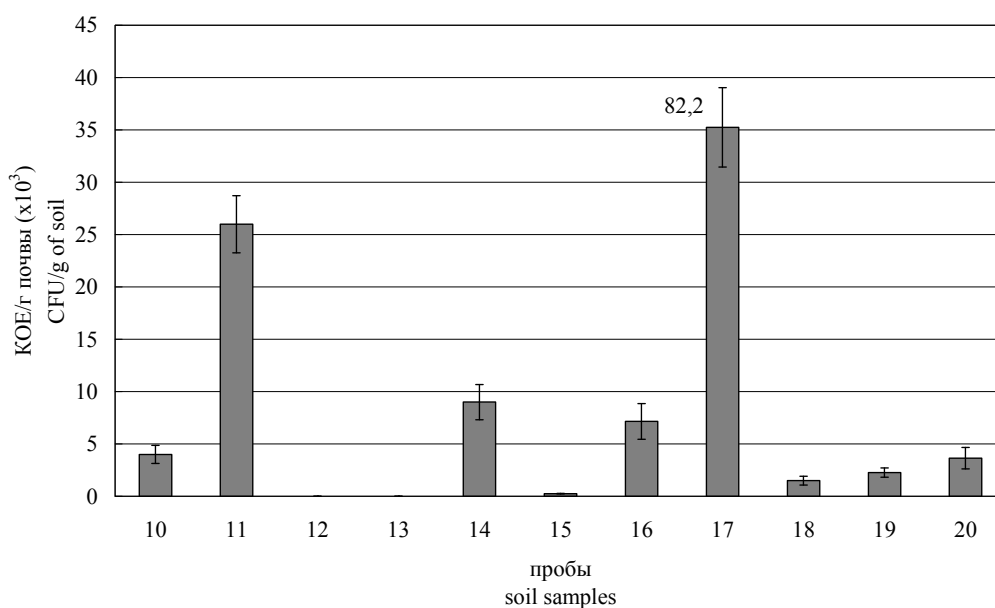


Рис. 6. Численность серооксиляющих микроорганизмов в пробах почвы
Fig. 6. Number of sulfur-oxidizing microorganisms in soil samples

Этот факт, а также обнаруженное нами в ряде почвенных проб повышенное содержание специализированной микрофлоры может быть связано с селективным воздействием соответствующих субстратов. Поэтому выявленные особенности в почвенных

микробценозах могут косвенно свидетельствовать о присутствии в почве серосодержащих соединений.

Достоверных корреляций между численностью микроорганизмов (гетеротрофных, метилотрофных, углеводород-, серо- и



железоокисляющих) в почве над ПХГ и исследованными физико-химическими показате-

лями почвы не обнаруживалось.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный микробиологический анализ почвы над подземным хранилищем природного газа выявил пониженное содержание гетеротрофных микроорганизмов по сравнению с фоновыми пробами, что может являться отражением реакций почвенных микроорганизмов на изменение условий окружающей среды.

В ряде образцов обнаружено повышенное содержание углеводородокисляющих и метилотрофных микроорганизмов (по сравнению с контрольными пробами), в том числе, облигатных, что позволяет говорить о поступлении метана в верхние слои почвы. Еще один признак, свидетельствующий об утечках метана на газоносной территории, это выявление железоокисляющих микроорганизмов, для которых субстратом могут являться бактериоморфные субнанодисперсные магнитные оксиды железа, образующиеся

при неполных циклах окисления метана. Результаты микробиологического анализа продемонстрировали также повышенное содержание сероокисляющих бактерий в ряде почвенных проб над ПХГ по сравнению с контрольной территорией, указывая на наличие в почве серосодержащих соединений.

Таким образом, результаты микробиологической индикации почв в зоне хранилища природного газа, свидетельствующие о развитии специализированных почвенных микроорганизмов, подтверждали наличие загрязнителей в почве (углеводородов и соединений серы). Регулярно-проводимый подобный мониторинг микробиологических показателей почв в районах ПХГ может способствовать поиску источников экотоксикантов, принимать своевременные меры по поддержанию нормального функционирования почвенных экосистем, их восстановлению.

Благодарность: Исследование проводилось при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (исследование Задача № 1757) и в рамках Президентской программы грантов для поддержки молодых российских ученых (МК-5424.2015.5).

Acknowledgement: The study was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (Study Task No. 1757) and within the framework of the Presidential Grant Program (Young Scientists Support Program) (MK-5424.2015.5).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Cao Y., Staszewska E. Methane emission mitigation from landfill by microbial oxidation in landfill cover // International conference on environmental and agriculture engineering IPCBEE. 2011. Singapore: IACSIT Press. vol. 15, pp. 57-64.
2. 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
3. Никонов А.И. Современные подходы к решению вопросов эколого-промышленной безопасности объектов нефтегазового комплекса // Территория «Нефтегаз». 2013, N 8. С. 86-93.
4. Можарова Н.В., Кулачкова С.А., Пронина В.В. Специфика функционирования почвенного покрова газоносных территорий // Вестник Московского Университета. Сер. 17, Почвоведение. 2005, N 3. С. 9-19.
5. Бухгалтер Э.Б., Будников Б.О., Можарова Н.В., Кулачкова С.А. Герметичность объектов подземного хранения природного газа по данным почвенно-экологического мониторинга // Территория «Нефтегаз». 2009, N 8. С. 70-73.
6. Kizilova A., Yurkov A., Kravchenko I. Aerobic methanotrophs in natural and agricultural soils of European Russia // Diversity. 2013, vol. 5, pp. 541-556. DOI:10.3390/d5030541
7. Практикум по микробиологии / Под ред. А.И. Нетрусова. М.: Академия, 2005. 608 с.
8. Гузев В.С., Халимов Г.М., Волде М.И., Куличевская И.С. Регуляторное воздействие глюкозы на активность углеводородокисляющих микроорганизмов в почве // Микробиология. 1997, Т. 66, N 2. С. 154-159.
9. Почвенные микроорганизмы: прокариоты, выделение, учет и идентификация / Под ред. Е.Г. Инешиной. Улан-Удэ: Изд-во ВСГТУ, 2007. 143 с.
10. Захарова Ю.Р., Парфенова В.В. Метод культивирования микроорганизмов, окисляющих железо и



марганец в донных осадках оз. Байкал // Изв. РАН. Сер. Биол. 2007, N 3. С. 290-295.

11. Кузнецов С.И., Дубинина Г.А. Методы изучения водных микроорганизмов. М.: Наука, 1989. 288 с.

12. Решетников М.В. Магнитная индикация почв городских территорий (на примере г. Саратова). Саратов: Сарат. гос. тех. ун-т, 2011. 152 с.

13. Mozharova N.V., Kulachkova S.A. Specificity of soil functioning and formation on gas-bearing areas // Journal of Soils and Sediments. 2008, vol. 8, no. 6, pp. 424-432. DOI:10.1007/s11368-008-0042-0

14. Mozharova N.V. Soil cover of gas-bearing areas // Eurasian Soil Science. 2010, vol. 43, no. 8, pp. 935-944. DOI:10.1134/S1064229310080119

15. Строганова М.Н., Иванов А.В., Гладышева М.А. Магнитная восприимчивость почв урбанизированных

территорий (на примере города Москвы) // Доклады по экологическому почвоведению. 2012, Т. 16, N 1. С. 40-80.

16. Zhang C., Qiao Q., Piper J.D.A., Huang B. Assessment of heavy metal pollution from a Fe-smelting plant in urban river sediments using environmental magnetic and geochemical methods // Environmental Pollution. 2011, vol. 159, pp. 3057-3070. DOI: 10.1016/j.envpol.2011.04.006

17. Гарифуллин Ф.С., Гатин Р.Ф., Шилькова Р.Ф., Саматов Р.М., Арсланов Ф.Г. Критерий оценки интенсивности процесса сульфидообразования в добывающих скважинах // Нефтяное хозяйство. 2002, N 11. С. 100-101.

REFERENCES

1. Cao Y., Staszewska E. Methane emission mitigation from landfill by microbial oxidation in landfill cover. International conference on environmental and agriculture engineering IPCBEE. 2011. Singapore, IACSIT Press. vol. 15, pp. 57-64.

2. 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

3. Nikonov A.I. Modern Approaches to Issues of Ecological and Industrial Safety of Oil and Gas Facilities. Territoriya «Neftegaz» ["Oilgas" Territory]. 2013, no. 8, pp. 86-93. (In Russian)

4. Mozharova N.V., Kulachkova S.A., Pronina V.V. Specificity of Soil Cover Function in the Region of Underground Gas-holder. Vestnik Moskovskogo Universiteta. Seriya 17, Pochvovedenie [Moscow University Soil Science Bulletin. Series 17, Soil Science]. 2005, no. 3, pp. 9-19. (In Russian)

5. Buhgalter Je.B., Budnikov B.O., Mozharova N.V., Kulachkova S.A. The tightness of underground storage of natural gas according to soil and environmental monitoring. Territoriya «Neftegaz» ["Oilgas" Territory]. 2009, no. 8, pp. 70-73. (In Russian)

6. Kizilova A., Yurkov A., Kravchenko I. Aerobic methanotrophs in natural and agricultural soils of European Russia. *Diversity*. 2013, vol. 5, pp. 541-556. DOI:10.3390/d5030541

7. Netrusov A.I., ed. *Praktikum po mikrobiologii* [Practical Studies in Microbiology]. Moscow, Akademiya Publ., 2005. 608 p.

8. Guzev V.S., Khalimov G.M., Volde M.I., Kulichevskaya I.S. Regulatory Effect of Glucose on Hydrocarbon-Oxidizing Microorganisms in Soil. *Mikrobiologiya* [Microbiology]. 1997, vol. 66, no. 2, pp. 154-159. (In Russian)

9. Ineshina E.G., ed. *Pochvennye mikroorganizmy: prokarioty, vydelenie, uchet i identifikatsiya* [Soil Microorganisms: Prokaryotes, Isolation, Registration and Identification]. Ulan-Ude, VSGTU Publ., 2007. 143 p.

10. Zakharova Yu.R., Parfenova V.V. A Method for Cultivation of Microorganisms Oxidizing Iron and Manganese in Bottom Sediments of Lake Baikal. *Biology Bulletin*. 2007, vol. 34, no. 3, pp. 236-241. (In Russian) DOI: 10.1134/S1062359007030041

11. Kuznetsov S.I. Dubinina G.A. *Metody izucheniya vodnykh mikroorganizmov* [Methods of Study of Aquatic Organisms]. Moscow, Nauka Publ., 1989. 288 p.

12. Reshetnikov M.V. *Magnitnaya indikatsiya pochv gorodskikh territorii (na primere g. Saratova)* [Magnetic Indication of Soils of Urban Territories (On the Example of Saratov City)]. Saratov, SGTU Publ., 2011. 152 p.

13. Mozharova N.V., Kulachkova S.A. Specificity of soil functioning and formation on gas-bearing areas. *Journal of Soils and Sediments*. 2008, vol. 8, no. 6, pp. 424-432. DOI:10.1007/s11368-008-0042-0

14. Mozharova N.V. Soil cover of gas-bearing areas. *Eurasian Soil Science*. 2010, vol. 43, no. 8, pp. 935-944. DOI:10.1134/S1064229310080119

15. Stroganova M.N., Ivanov A.V., Gladysheva M.A. Magnetic susceptibility of soils in the urbanized territories (on example of Moscow). *Interactive Journal of Ecological Soil Science*, 2012, vol. 1, no. 16, pp. 40-80. (In Russian)

16. Zhang C., Qiao Q., Piper J.D.A., Huang B. Assessment of heavy metal pollution from a Fe-smelting plant in urban river sediments using environmental magnetic and geochemical methods. *Environmental Pollution*. 2011, vol. 159, pp. 3057-3070. DOI: 10.1016/j.envpol.2011.04.006

17. Garifullin F.S., Gatin R.F., Shil'kova R.F., Samatov R.M., Arslanov F.G. The Criterion of Intensity of Sulfide Formation Evaluation Process in Producing Wells. *Neftyanoe khozyaistvo* [Oil Industry]. 2002, no. 11, pp. 100-101. (In Russian)



СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Принадлежность к организации

Екатерина В. Плешакова* – д.б.н., профессор кафедры биохимии и биофизики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, тел. +7(8452)50-38-58, ул. Астраханская, 83, корпус V, г. Саратов, 410012, Россия, e-mail: plekat@yandex.ru

Клемент Т. Нгун – аспирант кафедры биохимии и биофизики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, г. Саратов, Россия.

Михаил В. Решетников – к.г.н., доцент кафедры петрологии и прикладной геологии, заведующий лабораторией геоэкологии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, г. Саратов, Россия.

Критерии авторства

Михаил В. Решетников осуществлял отбор почвенных образцов, исследовал физико-химические показатели почвы, включая водородный показатель, окислительно-восстановительный потенциал, магнитную восприимчивость и др., подготовил карту-схему исследованной территории и табличный материал. Клемент Т. Нгун провел экспериментальные исследования, связанные с оценкой численности индикаторных микроорганизмов в почвенных образцах (гетеротрофных, углеводородокисляющих, метилотрофных и железоокисляющих). Екатерина В. Плешакова составила план исследования, подготовила обзор литературных источников по теме исследования, участвовала в анализе численности сероокисляющих микроорганизмов, проанализировала данные, подготовила рисунки, написала рукопись и несет ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 26.11.2016
Принята в печать 28.12.2016

AUTHORS INFORMATION

Affiliations

Ekaterina V. Pleshakova* – doctor of biological sciences, professor of the Department of Biochemistry and Biophysics of Saratov National Research State University named after N.G. Chernyshevsky, phone: +7(8452)50-38-58, address: 83 Astrakhanskaya str., Saratov, 410012 Russia, e-mail: plekat@yandex.ru

Clement T. Ngun – graduate student of the Department of Biochemistry and Biophysics of Saratov National Research State University named after N.G. Chernyshevsky, Saratov, Russia.

Mikhail V. Reshetnikov – PhD, associate professor of the Department of Mineralogy and Petrography, head of laboratory of geoecology, Saratov National Research State University named after N.G. Chernyshevsky, Saratov, Russia.

Contribution

Mikhail V. Reshetnikov, carried out selection of soil samples, studied the physicochemical parameters of the soil, including the hydrogen index, oxidation-reduction potential, magnetic susceptibility, etc., prepared a map-scheme of the investigated territory and tabular material. Clement T. Ngun, conducted experimental studies related to the assessment of the number of indicator microorganisms in soil samples (heterotrophic, hydrocarbon oxidizing, methylotrophic and iron-oxidizing). Ekaterina V. Pleshakova, compiled a study plan, prepared a review of the literature on the research, participated in conducting an analysis of the number of sulfur-oxidizing microorganisms, analyzed the data, prepared the drawings, wrote the manuscript and is responsible for avoiding the plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Received 26.11.2016
Accepted for publication 28.12.2016