

УДК 579.26(1-21):543.544

ИЗУЧЕНИЕ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ГОРОДСКИХ ПОЧВ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ – МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Л.П.Шумилова, Н.Г.Куимова

Институт геологии и природопользования Дальневосточного отделения РАН,
675000, г. Благовещенск, пер. Релочный, 1

РЕЗЮМЕ

Индикатором благополучия почв может служить состояние почвенных микробных сообществ. Традиционные микробиологические методы, связанные с использованием селективных сред, требуют много времени для выделения и идентификации микроорганизмов. Одним из современных методов, используемых для изучения разнообразия микробных сообществ, является метод газовой хроматографии – масс-спектрометрии. Данный метод позволяет реконструировать состав и структуру сообщества микроорганизмов по содержанию маркеров (жирных кислот, альдегидов, спиртов и стероидов) в природных образцах. Использование метода газовой хроматографии – масс-спектрометрии позволяет сократить время и стоимость исследования, благодаря отсутствию стадий повторных пересевов и тестовых ферментаций, которые особенно сложны, трудоемки и длительны. Целью выполненных исследований явилось изучение общей численности и видового разнообразия микробного сообщества почв г. Благовещенска (Амурская область) методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии. Из почвенных образцов экстрагировали липидные компоненты методом кислотного метанолиза в 0,4 мл 1М HCl в метаноле в течение одного часа при температуре 80°C. Жирнокислотный состав определяли на газовом хроматографе HP-5973 Agilent Technologies. В результате исследований выделено 44 вида бактерий, принадлежащих к 32 родам. Составлен общий список видов. Санитарно-опасных видов бактерий в городских почвах не обнаружено. Определена общая численность микроорганизмов в почвах различных функциональных зон г. Благовещенска. Максимальная численность микроорганизмов выявлена в почвах селитебно-транспортной зоны ($48,1 \times 10^6$ КОЕ/г) со средним уровнем загрязнения (Zc 16-32) тяжелыми металлами, что обусловлено влиянием бытовой и хозяйственной деятельности человека. В почвах промышленной зоны с высоким, опасным уровнем загрязнения (Zc > 32) наблюдали сокращение количества микроорганизмов ($13,1 \times 10^6$ КОЕ/г) относительно фона ($29,8 \times 10^6$ КОЕ/г).

Ключевые слова: городские почвы, микробное сообщество, газовая хроматография – масс-спектрометрия, загрязнение, тяжелые металлы.

SUMMARY

THE STUDY OF MICROBIAL ASSOCIATION IN CITY SOILS BY THE GAS

CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY METHOD

L.P. Shumilova, N.G. Kuimova

Institute of Geology and Nature Management of Far
Eastern Branch RAS, 1 Relochny Lane,
Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

Microbial associations can serve as the indicator of soils wellbeing. Traditional microbiological methods connected with the use of selective nutrient environments take up a lot of time for isolation and identification of microorganisms. The gas chromatography-mass spectrometry method is one of the modern methods used for studying of microbial variety. This method allows to reconstruct the composition and structure of microbial association according to markers (fatty acids, aldehydes, alcohols and sterols) in natural samples. The gas chromatography-mass spectrometry method allows to reduce time and research cost for lack of stages of repeated passages and test fermentations which are especially difficult, labor-consuming and long. The studying of total number and a specific variety of soil's microbial association of Blagoveshchensk (Amur region) by the method of gas chromatography - mass spectrometry was the purpose of the executed researches. Lipid components were extracted from soil samples by the method of acid methanolysis in 0.4 ml 1M of HCl in methanol within one hour at 80°C. The composition of fatty acids was defined with the gas chromatograph HP-5973 Agilent Technologies. As a result of the research 44 species of the bacteria belonging to 32 genera were isolated. The general list of bacteria species was made. Sanitary-dangerous species of bacteria weren't revealed in city soils. Total number of microorganisms in the soils of various functional zones of Blagoveshchensk was found. The increase in the number of microorganisms was revealed in the soils of a building-transport zone (48.1×10^6 CFU/g) with the average level of heavy metals pollution (Zc 16-32), which is conditioned by communal and economic activities of a man. The decrease in the number of microorganisms (13.1×10^6 CFU/g) was identified in the soils of an industrial zone with high, dangerous level of pollution (Zc > 32) in comparison with the background (29.8×10^6 CFU/g).

Key words: city soils, microbial community, gas chromatography-mass spectrometry, fatty acids, pollution, heavy metals.

Одной из актуальных проблем современных городов является проблема увеличения техногенного загрязнения почвы, воздуха и воды, что разрушительно

влияет на состояние здоровья городского населения. В крупных городах России усиливаются процессы, воздействующие на функционирование почв – переуплотнение корнеобитаемого слоя, запечатанность поверхности почв асфальтом, сокращение биоразнообразия почвенной микрофлоры и мезофауны, загрязнение тяжелыми металлами и другими поллютантами. Таким образом, происходит изменение качества среды обитания человека, снижение комфортности его жизни, что приводит к снижению медико-демографических показателей, в частности, наблюдается рост заболеваемости, появляются новые, генетически обусловленные болезни. В связи с этим возникает необходимость изучения экологического состояния городских почв [11].

Индикатором благополучия почвенных экосистем может служить состояние почвенных микробных сообществ. Микробные сообщества почв во многом определяются типом антропогенного воздействия и его интенсивностью. В литературе имеются данные об увеличении в городских почвах микроорганизмов кишечной группы, о преобладании определенных групп бактерий в зависимости от типа техногенного воздействия: пигментированные родококки – загрязнение нефтью, полихлорбифенилами; артробактерии, азотобактер – подщелачивание почв; энтеробактерии – хозяйственно-бытовое загрязнение [1, 8].

Традиционные микробиологические подходы для изучения микробных комплексов, связанные с использованием метода селективных сред, требуют много времени и профессиональных усилий микробиологов для выделения и идентификации. Кроме того, определяемое разнообразие бактериальных сообществ и численность микроорганизмов на два-три порядка ниже по сравнению с составом коллекций бактерий, выявленных в этих же образцах молекулярно-биологическими методами, так как многие виды микроорганизмов не культивируются на разработанных средах.

Одним из самых современных методов, используемых для изучения микробных сообществ, является метод газовой хроматографии – масс-спектрометрии, который позволяет по жирнокислотному составу мембранных структур, так называемым маркерам, реконструировать состав и структуру сообщества микроорганизмов. Данный метод имеет широкий диагностический спектр, возможность определения разных групп микроорганизмов (бактерии, грибы, вирусы), определение микроорганизмов до вида при наличии маркера, характерного для данного вида, высокая чувствительность: 0,01 нг/мл маркера [2, 9]. Указанный метод используется для анализа таксономического состава микробных сообществ в медицине, экологии и биотехнологии. Применение данного метода, позволяет определить состав микробного сообщества не только качественно, но и количественно.

Работы по изучению микробных комплексов в естественных и антропогенно нарушенных почвах на территории Дальневосточного региона немногочис-

ленны [3, 4]. Учитывая климатические и почвенные особенности Амурской области, а также региональные источники поступления поллютантов, вопрос об изучении структуры микробных комплексов на территории г. Благовещенска является актуальным и малоизученным.

Цель выполненных исследований – изучение общей численности и видового состава микробного сообщества почв г. Благовещенска методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии.

Материалы и методы исследования

Ранее нами изучено состояние почв и воздушной среды г. Благовещенска. Установлено, что основными трендами изменения физико-химических свойств городских почв в условиях антропогенной нагрузки являются: смещение pH среды в сторону подщелачивания, уменьшение содержания биогенных элементов (калия, фосфора) и органического углерода, увеличение общего содержания и подвижности тяжелых металлов, оказывающих токсическое воздействие на организмы [6, 12]. Выполнена оценка степени загрязнения почв г. Благовещенска тяжелыми металлами (Pb, Cd, Zn и др.) [12], полициклическими ароматическими углеводородами. По их суммарному содержанию большая часть почв города (85%) относится к загрязненным [5, 7]. Видовой состав бактериального сообщества в почвах г. Благовещенска и общую численность микроорганизмов (бактерии, грибы, актиномицеты) определяли в почвенных образцах, отобранных на территории различных функциональных зон города. Промышленная зона: ТЭЦ (т.1); Астрахановка (т.12), где сосредоточено большое количество частных предприятий и котельные. Селитебно-транспортная зона – перекресток ул. Конная-Шимановского (т.9). Рекреационная зона: Городской (т.11) и Первомайский (т.14) парки. В качестве «фона» были выбраны почвы Ботанического сада.

Состав микробного сообщества определяли методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии [2, 9] на газовом хроматографе HP-5973 Agilent Technologies (США) на кафедре агрохимии и биохимии растений МГУ. Из почвенных образцов экстрагировали липидные компоненты методом кислого метанолиза в 0,4 мл 1М HCl в метаноле в течение одного часа при 80°C. Полученный экстракт высушивали при 80°C, сухой остаток обрабатывали 20 мкл N,O-бис(триметилсилил)-трифторацетамида в течение 15 мин при 80°C. Далее 1-2 мкл полученной реакционной смеси разбавляли гексаном до 100 мкл и вводили в инжектор хромато-масс-спектрометра.

Масс-спектрометр квадрупольный, с диапазоном масс 2-1000 атомных единиц массы (а.е.м.), имеет разрешающую способность 0,5 а.е.м. во всем рабочем диапазоне. Чувствительность прибора 50 пг по метил-стеарату в режиме непрерывного сканирования и 1 пг в режиме селективных ионов. Для анализа необходимо использовать кварцевые капиллярные колонки, например HP-5ms, длиной 25-30 м и внутренним диаметром 0,25 мм с толщиной слоя неподвижной фазы 0,2 мкм. Хроматогра-

фирование проводили в режиме программирования температуры от 130 до 320°C со скоростью 5 град/мин. Температура инжектора – 280°C, интерфейса – 250°C.

Результаты исследования и их обсуждение

Методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии определена общая численность микроорганизмов в почвах города. Выявлено изменение общей численности микроорганизмов в почвах с разным уровнем загрязнения. В почвах промышленной зоны с высоким, опасным уровнем загрязнения ($Z_c > 32$) общая численность микроорганизмов сокращалась в 2–4 раза, что объясняется ухудшением физико-химических показателей и увеличением степени загрязнения почв тяжелыми металлами и полициклическими ароматическими углеводородами. Минимальные значения общей численности микроорганизмов отмечены в зоне воздействия ТЭЦ ($13,1 \times 10^6$), что в два раза ниже, чем в почвах фоновой территории. Низкая численность микроорганизмов обусловлена отсутствием древесной растительности в зоне действия ТЭЦ и высокой нагрузкой техногенного воздействия.

В почвах рекреационной зоны показатель численности незначительно отличался от фоновой почвы. В формировании сообщества микроорганизмов этих почв определяющую роль играла растительность парков, обеспечивающая оптимальный биохимический режим почв и снижающая техногенную нагрузку.

Максимальная численность микроорганизмов выявлена в почвах селитебно-транспортной зоны ($48,1 \times 10^6$) со средним уровнем загрязнения (Z_c 16–32) тяжелыми металлами, что обусловлено влиянием бытовой и хозяйственной деятельности человека. По степени убывания средних значений численности микроорганизмов построен следующий ранжированный ряд по функциональным зонам города (КОЕ/г): селитебно-транспортная ($48,1 \times 10^6$) > фон ($29,8 \times 10^6$) > рекреационная ($25,2 \times 10^6$) > промышленная ($13,1 \times 10^6$).

Численность микроорганизмов, относительно фона, увеличивалась в селитебно-транспортной зоне в 1,6 раза, тогда как в промышленной зоне произошло сокращение этого показателя в 2,3 раза.

Таким образом, на основании средних значений численности микроорганизмов установлено, что в почвах со средним уровнем загрязнения (Z_c 16–32) происходило увеличение численности микроорганизмов, а в почвах с высоким, опасным уровнем загрязнения ($Z_c > 32$) наблюдали сокращение данного показателя.

Методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии определен видовой состав бактериального сообщества почв г. Благовещенска. Выделено 44 вида бактерий, принадлежащих к 32 родам. На основании этого составлен общий список видов (табл.). В составе микробного сообщества преобладают грамположительные бактерии – 57% от общего числа видов, на долю грамотрицательных приходится 43%.

Среди грамположительных бактерий распространены аэробы – *Bacillus* sp., *Eubacterium* sp., *Propionibacterium* sp., *Rhodococcus* sp., а также анаэробы – *Clostridium pasteurianum*, *C. perfringens*, *Ruminococcus*

sp. Из грамотрицательных аэробных бактерий доминируют представители родов *Pseudomonas* sp. и *Sphingomonas* sp., среди облигатных анаэробов – *Bacteroides* sp. и *Butyrivibrio* sp. Санитарно-опасные виды в почвах города не обнаружены.

В сообществе бактерий городских почв всех функциональных зон в значительном количестве присутствуют представители рода *Rhodococcus* ($4-7 \times 10^6$ кл/г). Основу видового разнообразия бактерий составляют виды, численность которых имеет значения более 3×10^6 кл/г. К ним относятся представители разных функциональных групп: в почвах рекреационной зоны – *Butyrivibrio* 1-2-13, *Propionibacterium jensenii*, *P. freudenreichii*, *Rhodococcus equi*, *R. terrae*, *Streptomyces-Nocardopsis*; селитебно-транспортной зоны – *Acetobacter* sp., *Aeromonas hydrophila*, *Propionibacterium jensenii*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rhodococcus equi*, *R. terrae*, *Streptomyces-Nocardopsis*; промышленной зоны – *Propionibacterium jensenii*, *Rhodococcus equi*, *R. terrae*, *Ruminococcus* sp., *Sphingomonas capsulate*.

Выявлены особенности в таксономическом разнообразии бактерий в городских почвах в зависимости от степени загрязнения. Только в почвах селитебно-транспортной зоны обнаружена высокая концентрация *Mycobacterium* sp., что свидетельствует о присутствии углеводородного загрязнения (высокая транспортная нагрузка). Представители этого рода обладают гидрофобной поверхностью за счет присутствия миколовых кислот и способны использовать гидрофобные углеводороды в своем метаболизме [11]. О высокой степени загрязнения продуктами сгорания топлива в промышленной зоне свидетельствует существенное увеличение численности таких бактерий, как *Ruminococcus* sp. (в 10 раз выше, чем в фоновой почве) и *Propionibacterium freudenreichii*. Это анаэробные виды бактерий, способные к переработке природных полимерных углеводов (целлюлозы) и сложных органических соединений, таких как гуминовые кислоты, особенно это характерно для последнего вида [13]. В промышленной зоне отмечено превышение численности *Sphingomonas capsulate*, относительно фона в 7 раз. Этот вид осуществляет минерализацию более простых органических соединений, оставшихся после ферментативного гидролиза сложных органических соединений анаэробными видами.

Таким образом, методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии изучена общая численность почвенных микроорганизмов. Установлено, что в почвах со средним уровнем загрязнения (Z_c 16–32) происходило увеличение численности микроорганизмов; в почвах с высоким, опасным уровнем загрязнения ($Z_c > 32$) наблюдали сокращение данного показателя. Изучен состав бактериального сообщества в почвах г. Благовещенска, реконструированный по микробным маркерам. Выделено 44 вида бактерий, принадлежащих к 32 родам, составлен общий список видов. Санитарно-опасных видов бактерий в городских почвах не обнаружено. Выявлены некоторые особенности в таксономическом разнообразии бактерий в городских почвах в зависимости от степени загрязнения. Применение

метода газовой хроматографии – масс-спектрометрии дает представление о количественном содержании микроорганизмов, позволяет определить родовой (ви-

довой) состав, что открывает возможность изучения различных аспектов функционирования почвенного микробного сообщества.

Таблица

Видовой состав бактериального сообщества почв г. Благовещенска

Микроорганизмы, кл/г×10 ⁶	Фоновая территория	Функциональные зоны				
		Рекреационная		Селитебно-транспортная	Промышленная	
		т.11	т.14	т.9	т.12	т.1
<i>Acetobacter</i> sp.	1,50	2,28	0,86	2,72	1,14	0,54
<i>Acetobacterium</i> sp.	0,04	0,27	0,08	0,36	0,02	0,05
<i>Actinomadura roseola</i>	0,08	0,31	0,00	0,07	0,14	0,00
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0,75	1,44	0,00	2,87	0,30	1,30
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0,66	0,94	1,09	0,70	0,02	0,00
<i>Arthrobacter</i> sp.	1,48	2,34	1,51	1,24	1,15	0,50
<i>Bacillus subtilis</i>	0,37	0,58	0,30	0,56	0,46	0,05
<i>Bacillus</i> sp.	0,29	0,23	0,40	0,68	0,35	0,22
<i>Bacteroides hypermegas</i>	0,04	0,08	0,02	0,20	0,07	0,05
<i>Bacteroides ruminicola</i>	0,19	0,29	0,09	1,01	0,26	0,14
<i>Bifidobacterium</i> sp.	0,09	0,15	0,07	0,05	0,00	0,02
<i>Butyrivibrio</i> 1-4-11	0,02	0,00	0,00	1,15	0,38	0,16
<i>Butyrivibrio</i> 1-2-13	1,91	2,67	1,24	1,19	2,34	0,48
<i>Butyrivibrio</i> 7S-14-3	0,31	0,43	0,01	1,44	0,37	0,13
<i>Caulobacter</i> sp.	0,60	0,58	0,57	0,93	1,13	0,07
<i>Clostridium</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,00
<i>C.pasteurianum</i>	0,06	0,05	0,26	0,00	0,37	0,16
<i>C.perfringens</i>	0,03	0,06	0,01	0,28	0,13	0,04
<i>Corynebacterium</i> sp.	0,19	0,51	0,34	0,06	0,10	0,04
<i>Cytophaga</i> sp.	0,15	0,18	0,05	0,62	0,15	0,15
<i>Desulfovibrio</i> sp.	0,65	0,11	0,22	0,79	0,40	0,00
<i>Eubacterium lentum</i>	0,29	0,36	0,12	0,57	0,24	0,13
<i>Eubacterium</i> sp.	0,00	0,00	0,01	0,37	0,00	0,10
<i>Methanococcus</i> sp.	0,06	0,05	0,26	0,00	0,37	0,16
<i>Mycobacterium</i> sp.	0,00	0,00	0,00	1,20	0,00	0,00
<i>Nocardia carnea</i>	0,16	0,17	0,14	0,19	0,00	0,11
<i>Nocardiopsis</i> sp.	0,38	0,25	0,23	1,23	0,29	0,09
<i>Ochrobactrum</i> sp.	0,70	0,96	0,45	2,12	0,47	0,10
<i>Propionibacterium jensenii</i>	1,40	2,81	0,98	3,79	1,41	0,97
<i>P.freudenreichii</i>	1,39	2,64	1,76	1,55	6,52	0,31
<i>Propionibacterium</i> sp.	0,42	0,94	0,82	0,31	0,51	0,00
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1,06	1,32	0,35	4,46	0,74	0,39
<i>P.putida</i>	0,72	0,94	0,29	1,79	0,42	0,93
<i>P. vesicularis</i>	0,19	0,48	0,11	0,89	0,20	0,21
<i>Pseudonocardia</i> sp.	0,45	0,70	0,30	0,58	0,30	0,09
<i>Rhodococcus equi</i>	6,06	7,40	6,05	5,36	4,57	0,74
<i>Rhodococcus terrae</i>	2,21	3,27	3,60	3,50	1,38	3,00
<i>Riemirella</i> sp.	0,24	0,31	0,08	0,94	0,26	0,23
<i>Ruminococcus</i> sp.	1,12	0,60	0,53	0,22	11,92	0,04
<i>Sphingobacterium spiritovorum</i>	0,33	0,60	0,21	0,63	0,21	0,08
<i>Sphingomonas adgesiva</i>	0,48	0,72	0,27	1,10	0,44	0,13
<i>Sphingomonas capsulata</i>	0,37	0,59	0,17	1,01	2,94	0,23
<i>Streptomyces-Nocardiopsis</i>	1,45	2,59	1,32	3,18	1,13	0,22
<i>Xanthomonas</i> sp.	0,43	0,53	0,20	1,04	0,53	0,45

Авторы выражают искреннюю благодарность Н.В.Верховцевой и сотрудникам кафедры агрохимии и биохимии растений МГУ им. Ломоносова за помощь в определении микробного сообщества методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ (11-04-90733 моб_ст; 12-05-31099 МОЛ_А); частично гранта Президиума ДВО РАН (13-III-B-06-110).

ЛИТЕРАТУРА

1. Артамонова В.С. Микробиологические особенности антропогенно преобразованных почв Западной Сибири. Новосибирск: СО РАН, 2002. 225 с.
2. Верховцева Н.В., Осипов Г.А. Метод газовой хроматографии-масс-спектрометрии в изучении микробных сообществ почв агроценоза // Пробл. агрохим. и экол. 2008. №1. С.51–54.
3. Егорова Л.Н. Почвенные грибы Дальнего Востока: гифомицеты. Л.: Наука, 1986. 192 с.
4. Егорова Л.Н., Ковалева Г.В. Структура сообществ микромицетов в естественных и антропогенно нарушенных бурых лесных почвах полуострова Муравьева-Амурского (Южное Приморье) // Микология и фитопатология. 2011. Т.45, вып.2. С.125–133.
5. Котельникова И.М., Сергеева А.Г., Куимова Н.Г. Полициклические ароматические углеводороды в снежном покрове и почвах г. Благовещенска // Экол. и промышл. России. 2013. №4. С.44–50.
6. Куимова Н.Г., Шумилова Л.П., Павлова Л.М. Фитотоксичность почв и микроскопических грибов как показатель загрязнения экосистем тяжелыми металлами // Вестн. Северо-Вост. науч. центра ДВО РАН. 2012. №1. С.102–107.
7. Эколого-геохимическая оценка аэротехногенного загрязнения урбанизированной территории по состоянию снежного покрова / Н.Г.Куимова [и др.] // Геоэкология. 2012. №5. С.422–435.
8. Лысак Л.В. Бактериальные сообщества городских почв: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2010. 46 с.
9. Пат. 2086642 RU. Способ определения родового (видового) состава ассоциации микроорганизмов / Г.А.Осипов; опубл. 10.08.1997.
10. Почва, город, экология / под ред. Г.В.Добровольского. М.: Фонд «За экологическую грамотность», 1997. 320 с.
11. Современная микробиология. Прокариоты: в 2-х т. / под ред. Й.Ленгелера, Г.Древса, Г.Шлегеля. М.: Мир, 2005. Т.1,2. 1152 с.
12. Шумилова Л.П. Оценка экологического состояния почв и воздушной среды г. Благовещенска: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток, 2012. 20 с.
13. Benz M., Schink B., Brune A. Humic acid reduction by *Propionibacterium freudenreichii* and other fermenting

bacteria // Appl. Environ. Microbiol. 1998. Vol.64, №11. P.4507–4512.

REFERENCES

1. Artamonova V.S. *Mikrobiologicheskie osobennosti antropogenno preobrazovannykh pochv Zapadnoy Sibiri* [Microbiology of anthropogenically transformed soils of Western Siberia]. Novosibirsk: SB RAS; 2002.
2. Verkhovtseva N.V., Osipov G.A. *Problemy agrokhimii i ekologii* 2008; 1:51–54.
3. Egorova L.N. *Pochvennye griby Dal'nego Vostoka: gifomicety* [Soil fungi of the Far East: Hyphomycetes]. Leningrad: Nauka; 1986.
4. Egorova L.N., Kovalev G.V. *Micologiya i fitopatologiya* 2011; 45(2):125–133.
5. Kotelnikova I.M., Sergeeva A.G., Kuimova N.G. *Ekologiya i promyshlennost' Rossii* 2013; 4:44–50.
6. Kuimova N.G., Shumilova L.P., Pavlova L.M. *Vestnik Severo-Vostochnogo nauchnogo tsentra Dal'nevostochnogo otdeleniya RAN* 2012; 1:102–107.
7. Kuimova N.G., Sergeeva A.G., Shumilova L.P., Pavlova L.M., Borisova I.G. *Geoekologiya* 2012; 5:422–435.
8. Lysak L.V. *Bakterial'nye soobshchestva gorodskikh pochv: avtoreferat dissertatsii doktora biologicheskikh nauk* [Bacterial associations of urban soils: abstract of thesis...doctor of biological sciences]. Moscow; 2010.
9. Osipov G.A. *Patent 2086642 RU. Spособ opredeleniya rodovogo (vidovogo) sostava assotsiatsii mikroorganizmov* (Patent 2086642 RU. The method for determining the genera (species) of the association of microorganisms); published 10.08.1997.
10. Dobrovolskiy G.V., editor. *Pochva, gorod, ecologia* [Soil, a city, ecology]. Moscow; 1997.
11. Lengeler J.W., Drews G., Schlegel H.G., editors. *Sovremennaya mikrobiologiya. Prokarioty* [Biology of the Prokaryotes]. Moscow: Mir; 2005.
12. Shumilova L.P. *Otsenka ekologicheskogo sostoyaniya pochv i vozduшной sredy goroda Blagoveshchenska* [The assessment of the environmental state of soils and the air of Blagoveshchensk: abstract of thesis...candidate of biological sciences]. Vladivostok; 2012.
13. Benz M., Schink B., Brune A. Humic acid reduction by *Propionibacterium freudenreichii* and other fermenting bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 1998; 11(64):4507–4512.

Поступила 06.08.2013

Контактная информация

Людмила Павловна Шумилова,

кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории биогеохимии,
Институт геологии и природопользования Дальневосточного отделения РАН,

675000, г. Благовещенск, пер. Речной, 1.

E-mail: Shumilova.85@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Lyudmila P. Shumilova,

PhD, Junior staff scientist of Laboratory of Biogeochemistry,
Institute of Geology and Nature Management of Far Eastern Branch RAS,

1 Relochniy Lane, Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation.

E-mail: Shumilova.85@mail.ru