

**О развитии *Azotobacter chroococcum* Beiyrinck
в старовозрастных отвалах антрацита**

© 2018. В. С. Артамонова¹, д. б. н., в. н. с.,

С. Б. Бортникова², д. б. н., зав. лабораторией,

¹Институт почвоведения и агрохимии СО РАН,

630090, Россия, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 8/2,

²Институт нефтегазовой геологии им. А.А. Трофимука СО РАН,

630090, Россия, г. Новосибирск, пр. Академика Коптюга, 3,

e-mail: artamonova@issa.nsc.ru, bortnikovasb@ipgg.sbras.ru

Увеличение объёмов добычи каменного угля ведёт к образованию отвалов вскрышных пород, которые негативно воздействуют на окружающую среду. Безопасность отвалов зависит от присутствия углистых частиц, аккумулирующих радиоактивные и токсичные элементы, которые влияют на жизнепригодность первопоселенцев. На примере бактерии *Azotobacter chroococcum*, которая участвует в формировании почвенных свойств, показано, что в мелкозёме отвалов антрацитового месторождения в Западной Сибири в посттехногенный период формируются разные условия для жизнедеятельности бактерии. Установлено, что выветренный антрацит, почвообразующая порода – потенциально-плодородный карбонатный суглинок и почвоподобные тела – эмбриозёмы, или молодые почвы, заселены бактерией одинаково максимально, но по скорости и характеру роста азотобактера они различаются. Наилучшие условия для развития азотобактера складываются в почвообразующей породе, благодаря высокому содержанию жизненно важных элементов, прежде всего Са и Мо. В эмбриозёмах набор питательных элементов был представительнее, в него входили Са, Мп, К, Fe, Мо, но одновременно присутствовали As, подвижные формы Zn, Pb, Co, Cd, Cu. В первом случае проявлялся мицелиевидный характер роста, обеспечивший максимальное освоение экониш бактерией. Во втором случае проявился защитный эффект бактерии от токсикантов – рост был ризоидный с продуцированием слизи и выраженным синтезом каротиноидных пигментов. В выветренном антраците присутствие токсикантов и дефицит пищи обусловили схожий адаптивный ответ – скорость роста была минимальной, колонии характеризовались плотной слизью и синтезом экзопигментов. Высказывается предположение, что радиоактивные элементы, такие как U и Th, присутствующие в углистых частицах эмбриозёмов и антрацита, способствуют выживанию азотобактера в техногенной обстановке. Полученные результаты расширяют знания об экологии азотобактера, представляют интерес для создания биопрепаратов – почвоулучшителей поверхности техногенных отходов в регионах добычи метаморфизированных углей.

Ключевые слова: азотобактер, антрацит, лессовидный карбонатный суглинок, молодая почва, токсичные и радиоактивные элементы.

**About the development of *Azotobacter chroococcum* Beiyrinck
in old-age dumps of anthracite**

V. S. Artamonova¹, S. B. Bortnikova²,

¹Institute of Soil Science and Agrochemistry, SB RAS,

8/2, Lavrentjev Pr., Novosibirsk, Russia, 630090,

²Trofimuk Institute of Petroleum Geology and Geophysics, SB RAS,

3, Academician Koptug Pr., Novosibirsk, Russia, 630090,

e-mail: artamonova@issa.nsc.ru, bortnikovasb@ipgg.sbras.ru

The increase in the volume of coal mining leads to the formation of waste dumps that negatively affect the ecology of the environment. The safety of the waste dumps depends on the presence of coal particles, which accumulate radioactive and toxic elements, and affect the viability of the first settlers. On the example of the bacterium *Azotobacter chroococcum*, which participates in the formation of soil properties, it is shown that in the fine fraction of the anthracite waste dumps in Western Siberia, different conditions for the life of the bacteria are formed in the post-technogenic period. It has been established that the weathered anthracite, soil-forming rock – potentially fertile carbonate loam and soil-like bodies – embryozems, or young soils, are equally maximally populated by the bacterium, but they differ in the speed and nature of *Azotobacter* growth. The best conditions for the development of bacteria in the soil-forming rocks are formed due to the high content of vital elements, especially Ca and Mo. In embryos the set of nutrients was more representative, it included

Ca, Mn, K, Fe, and Mo, but there were As, and mobile forms of Zn, Pb, Co, Cd, Cu simultaneously. In the first case, the mycelial growth pattern was manifested, which ensured the maximum growth rate of the bacterium. In the second case, the protective effect of the bacterium against toxicants was exhibited – the growth was rhizoid with the production of mucus and the pronounced synthesis of coratinoid pigments. In the weathered anthracite, the presence of toxicants and a food deficit caused a similar adaptive response – the growth rate was minimal and was achieved by the compact growth of a colony with dense mucus and the synthesis of exopigments. It is suggested that the radioactive elements, such as U and Th, present in embryos and anthracite, contribute to the survival of *Azotobacter* in anthropogenic environment. The obtained results broaden knowledge of the azotobacter's ecology, and are of interest for the creation of biologicals – soil improvers on the surface of technogenic wastes in the regions of coal mining.

Keywords: azotobacter, anthracite, loess-like calcareous loam, young soil, toxic and radioactive elements.

Открытая (карьерная) добыча ископаемых углей порождает серьезные экологические проблемы. На дневной поверхности происходит накопление отвалов вскрышных пород с углистыми остатками, которые содержат широкий набор химических элементов, в том числе потенциально токсичных и опасных радиоактивных [1–3]. Особенно обогащены вредными примесями угли наиболее высокой степени углефикации (метаморфизма) – антрациты. Присутствие химических элементов в них обусловлено магматической, вулканической и тектонической активностью земной коры в древние геологические эпохи (210–280 млн. лет назад), которая сопровождала угле-образование.

В России лидерство по добыче метаморфита с 2015 г. принадлежит Сибирскому федеральному округу (его доля составляет около 60%). Залежи высококачественного антрацита – Ultra High Grade (UHG) сосредоточены в Горловском антрацитовом бассейне в пределах Искитимской геотехнической системы (Новосибирская область), в 100 км от мегаполиса г. Новосибирск. Но угли этого месторождения геохимически специализированы на As, Au, Br, Co, Sr и их содержание в угольных пластах промышленно значимо. Наряду с этими элементами присутствуют тяжёлые и природные радиоактивные металлы. Широкий набор химических элементов в углях, оказавшихся на дневной поверхности, небезопасен для окружающей среды. В целях предотвращения угрозы возникновения массовых неинфекционных заболеваний (отравлений), вызванных химическим загрязнением, для имущественного комплекса горнотранспортной части угольного разреза «Горловский» Постановлением РФ от 28 августа 2017 г. [4] установлена санитарно-защитная зона во всех направлениях от границы земельного участка (на расстоянии 300 м), возложен контроль федеральных органов за соблюдением её размера. Априори химическому загрязнению подвержены почвообразующие породы,

почвоподобные образования, подотвальные воды, воздух, растительность, зрелые почвы, в том числе за пределами карьерных полей. Это актуализирует решение проблемы экологической безопасности угледобывающего района, поиск технологий ускоренного формирования продуктивных биоценозов, как прежних, так и искусственных, с трендом на восстановление почвенного плодородия, гумусового горизонта, качества почв. В связи с этим представляется своевременным изучение развития аэробной свободноживущей бактерии *Azotobacter chroococcum* в старовозрастных отвалах антрацита, поскольку бактерия выполняет важные экосистемные функции: продукционные, средообразующие, санитарные, однако в обстановке геохимического наследия она изучена недостаточно.

Азотобактер обогащает жизнеобитаемые среды азотсодержащими соединениями и биологически активными веществами (никотиновой и пантотеновой кислотой, пиродоксином, биотином, гетероауксином, гиббереллином и др.), стимулирующими прорастание и развитие растений [5–14]. Некоторые штаммы азотобактера, продуцирующие индолил-3-уксусную кислоту, повышают термоустойчивость проростков [15], что чрезвычайно важно для фитопоселенцев на отвалах. В присутствии специфичных штаммов азотобактера в ризосфере растений возрастает содержание аминокислот, особенно незаменимых [16]. Некоторые штаммы бактерии проявляют положительный хемотаксис к веществам, входящим в мучигель вокруг корней небобовых растений, способность проникать в зону гистосферы, размножаться там [17], обуславливая морфологические изменения клеток партнёра. Не исключено, что азотобактер, продуцирующий меланин – продукт реакции окислительной конденсации природных полифенолов, оказывается вовлечённым в формирование бобово-ризобиального симбиоза. Фенольные соединения в низких концентрациях усиливают образование клубеньков у клевера лугового до

240% [18]. Некоторые экзогенные метаболиты фенольной природы существенно повышают активность нитрогеназы в клубеньках [19]. В свою очередь, продукт азотобактера триптофан – предшественник индолилуксусной кислоты (гормона из группы ауксинов), возможно, тоже участвует в активизации нодуляции (согласно так называемой ауксиновой гипотезе), подобно продуктам экзоосмоса самой корневой системы [18]. Присутствие триптофана (на разлагающейся ткани) зарегистрировано в молодых почвах углеотвалов, а в чернозёме выщелоченном, тёмно-серой лесной и горно-таёжной псевдоподзолистой почвах аминокислота отсутствовала [20]. Известно, что между бактериями *Azotobacter* и *Rhizobium* отмечаются генетические трансформации, которые, возможно, реализуются в техногенных условиях их совместного обитания. Гены белковых субъединиц компонентов нитрогеназы некоторых представителей родов *Rhizobium* и *Azotobacter* образуют единый оперон [21], часть *nif*-генов обладает характерными чертами транспозона. В этой связи нельзя не допустить возможность обмена генами диязотрофных бактерий в случае, когда *Rhizobium* находится в свободноживущем состоянии, в том числе после освобождения нодулирующих штаммов из травмированных бактериоидов, окружённых *Azotobacter chroococcum*. Не следует исключать его и на этапе адсорбции ризобий на корневых волосках в присутствии азотобактера. Как известно, бактерии родов *Rhizobium* и *Bradrhizobium* «узнают» своего хозяина по гликопротеину – лектину, расположенному на корневых волосках. Какова же роль гликопротеинового комплекса азотобактера на стадии преинфекции до конца не ясна, как и нет ответов на многие другие вопросы. Об участии бактерии в образовании бобово-ризобияльного симбиоза судят по молекулярно-генетическим и эколого-биохимическим особенностям взаимоотношений, но, к сожалению, комплексные исследования ассоциативной и симбиотической азотфиксации, активно осуществляемые в институтах Сибирского отделения РАН (ИПА, ЦСБС, ИЦиГ) в прошлом веке, из-за ограничения финансирования в начале нового столетия, фактически остановились. Поэтому многие аспекты взаимодействия бактерий и дикорастущих растений на начальных стадиях развития симбиоза в почвах Сибири остаются до конца не изученными. Место азотобактера в ризосфере гораздо значимее, чем мы представляем, но пока неизвестно каким образом

регулируется поведение популяции в ней. Молекулярно-генетический анализ взаимодействия бактерий, в том числе азотобактера, стимулирующих рост и развитие растений, осуществляется с помощью разных стратегий. В изучении механизмов ассоциативности используются генотипические и фенотипические методы [22].

Полифункциональные особенности азотобактера особенно привлекательны в генно-инженерном конструировании ризосферы. Формирование геномных клонов не менее значимо в решении ряда практических задач, в том числе появлении у растений партнёров так называемой индуцированной устойчивости, повышающей защиту от стрессов, фитопатогенов, тяжёлых металлов, так важной на техногенных объектах.

Средообразующая функция азотобактера в значительной степени обеспечивается продуцированием экзополисахаридов, которые связывают металлы с образованием хелатов [23], что позволяет рассматривать эти бактериальные вещества в качестве детоксикантов. Кроме того, как и другие микроорганизмы, азотобактер синтезирует соединение фенольной природы – меланин [24], особенно при высоких уровнях дыхания [25], возможно, участвует в пополнении гуминоподобных веществ, чрезвычайно важных на начальных этапах становления почв.

Доказано, что бактерия метаболически активна в экстремальных условиях северного и южного полярного региона, несмотря на короткие местные сезоны роста и относительно низкие значения рН, в арктическом регионе: в глине и суглинках (в том числе торфянистых и песчаных суглинках), в антарктическом регионе – в грунте побережья [26]. В сухих почвах азотобактер сохраняет жизнеспособность в виде цист [27]. Поэтому его жизнедеятельность в техногенных экосистемах, как и других уязвимых условиях обитания, заслуживает пристального внимания и многостороннего рассмотрения.

Санитарная функция азотобактера обусловлена антифунгальным действием продуцируемых им фунгицидных веществ из группы анисомицина, которые угнетают развитие некоторых микромицетов в ризосфере растений [28, 29]. Интересно также, что противовирусный эффект может обуславливаться меланином [30]. Не случайно, эта антагонистическая способность азотобактера в сочетании с синтезом экзополисахаридов недавно нашла применение в производстве

наночастиц против фитопатогенов [31]. Кроме этого, использование азотобактера в комплексе с вермикомпостами рассматривается как экологически чистый путь снижения химических удобрений [32]. Ведутся эксперименты с целью использования способности бактерии аккумулировать полистеролы в дизайне кластера генов других бактерий [33], что может оказаться интересным в практическом отношении. Стоит сказать, что в большинстве биотехнологических процессов используется ограниченное разнообразие микроорганизмов, которые классифицируются как GRAS (“generally recognized as safe”) и обычно считаются безопасными. Поэтому азотобактер может оказаться базовым объектом биотехнологии улучшения качества техногенной среды обитания, в том числе в техногенном элювии вскрышных и вмещающих пород угольных месторождений, в том числе антрацита. Однако информации о химизме таких местообитаний и особенностях их заселения бактерией практически нет, поскольку сведения о геохимии углей долгое время были недоступны для открытой печати. Судя по единичным работам, бактерия осваивает уже однолетние углеотвалы Кузбасса [14], обнаруживая при этом 30%-ную встречаемость. В условиях дефицита углерода бактерия могла утилизировать углеродистые соединения собственных экзополисахаридов и фитопоселенцев. По отношению к источникам углерода В.Л. Омелянский в 1923 г. (в книге «Невидимый мир») назвал азотобактер полифагом – «всеядным организмом» [34], потому что бактерия, наряду с углеводами, усваивает малодоступные другим микробам органические кислоты жирного и ароматического ряда, летучие органические соединения, в том числе одно- и многоатомные спирты. Следует сказать, что виды рода *Azotobacter* характеризуются редко встречающейся в природе способностью усваивать углерод из ароматических соединений. Более того, после разрушения растительного скелета (целлюлозы, гемицеллюлозы, лигнина) в среде обитания азотобактера преобладают продукты брожения: жирные кислоты, спирты – «отходы брожения», бедные связанным азотом [35]. При этом бактерия утилизирует «плохие» питательные вещества, фиксирует азот атмосферы, размножается. Возбудители брожения такую конкуренцию за дефицитный азот не выдерживают. Склонность азотобактера к указанным веществам сопровождается сохранностью их морфологических свойств.

Выживанию азотобактера на старовозрастных углеотвалах может способствовать выветренность (окисленность) карбоидов углей с высвобождением гуминовых кислот (ГК). ГК карбоидного генезиса присутствуют в каустобиолитах: торфе, буром и каменном угле, в том числе геологически окисленных вариантах и экспериментально выветренных. Фрагментарный состав ГК бурых углей представлен карбоксильным, ароматическим, полисахаридным, алифатическим углеродом, а элементный состав ГК сложен С, Н, N, O [36]. Утилизация ГК азотобактером, а также бациллами, миксобактериями, плесневыми грибами, актиномицетами выявлена в лабораторных условиях ещё в середине прошлого века. Углерод и азот ГК бурых углей усваивается микробами, что доказано с помощью газовой хроматографии [37]. Возможно, углерод ГК окисленных метаморфитов, как и других углей, доступен азотобактеру в качестве источника питания и энергии, так же, как и углефицированной древесины, фитолитов, микрофосиллий микроорганизмов и водорослей.

Цель настоящей работы заключалась в изучении развития *Azotobacter chroococcum* в старовозрастных отвалах антрацита (на примере Горловского месторождения). Задачи исследований включали определение заселённости мелкозёма бактерией (по проценту обрастания комочков), скорости и характера её роста в выветренном антраците, почвообразующей породе, молодой почве с учётом особенностей их химической характеристики.

Объекты и методы исследований

Объекты исследований расположены на участке промышленной добычи антрацита, в лесостепной зоне, на стыке Салаирского низкогорья (его западного склона) и Присалаирской дренированной равнины (Западная Сибирь). Покровные породы угленосных залежей – лессовидные карбонатные суглинки. Характерная суглинкам микроагрегированность, пористость, щелочная реакция среды, насыщенность основаниями обуславливает их значительную ценность в качестве почвообразующих пород. На поверхности суглинка в старовозрастных отвалах антрацита выявлено формирование почвоподобных образований, или новых почв – эмбриозёмов.

В этой связи нами были обследованы лёссовидный карбонатный суглинок, эмбриозёмы и выветренный (окисленный) антрацит. Бак-

териальному и химическому анализу подвергнут мелкозём поверхности данных объектов. Определение заселённости и скорость роста бактерии проводили методами, изложенными ранее [38]. Выявление содержания геохимических элементов в мелкозёме проводили методом РФА-СИ для твёрдых проб на станции ВЭПП-3 Института ядерной физики СО РАН (аналитик Ю.П. Колмогоров). Чувствительность определения элементов на базе СИ – 0,1 г/т. Содержание подвижных форм тяжёлых металлов (ТМ) определяли в лаборатории биогеохимии почв ИПА СО РАН согласно методу, представленному в предыдущей работе [38].

Полученные результаты обрабатывались с применением компьютерных программ математической статистики (Statistica 6.0). Повторность определения заселённости и скорости роста азотобактера $n = 150$ (по 50 комочков в каждой из 3 чашек Петри), повторность определения химических элементов 3-кратная. В таблицах и на рисунке приведены средние арифметические данные, стандартные ошибки которых не превышают 10%.

Результаты и обсуждение

Исследования показали, что поверхность самозарастающих 30-летних отвалов антрацита колонизирована азотобактером повсеместно. Мелкозём почвообразующих пород, почвоподобных образований и выветренного антрацита обнаруживает 100%-ное заселение бактерией. Этому, вероятно, благоприятствует сорбция бактериальных клеток разбухающими минералами группы монтмориллонита, которые наиболее распространены среди глинистых минералов вскрыши.

По нашим данным в почвообразующей породе и почвоподобном образовании азотобактер размножался быстрее, чем в выветренном антраците. Ореол роста бактерии вокруг мелкозёма выветренного угля достигал максимума через трое суток, в остальных случаях – через двое. Скорость роста, рассчитанная за сутки, оказалась максимальной в лёссовидном карбонатном суглинке, минимальная – в выветренном угле (рис. 1).

Статистическая обработка показателей роста бактерии вокруг комочков мелкозёма показала, что данные достоверны (табл. 1). Площадь ореола роста азотобактера вокруг мелкозёма выветренного угля (пластинки, крошка, смесь) составила 46,0–75,5 мм², вокруг мелкозёма лёссовидного карбонатного суглинка – 72,6 мм², в то время как вокруг

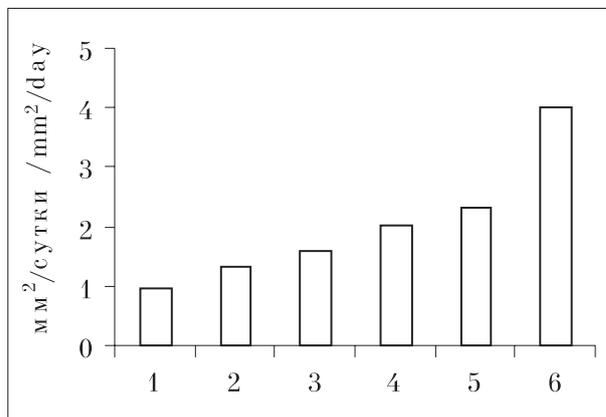


Рис. 1. Рост азотобактера вокруг 1 мм² мелкозёма разных экоотопов отвала: 1 – уголь, пластинки; 2 – уголь, пластинки + крошка; 3 – уголь, крошка; 4 – эмбриозём под щавелем; 5 – эмбриозём под разнотравьем; 6 – суглинок

Fig. 1. Growth of *Azotobacter* around 1 mm² of fine-grained soil in different ecotopes of the dump: 1 – coal, plates; 2 – coal, plates + crumb; 3 – coal, crumb; 4 – embryozems under sorrel; 5 – embryozem under motley grass; 6 – loam

такового эмбриозёмов (под высшими растениями) достигла 95,0 мм². Общая площадь ореола роста бактерии с площадью комочка мелкозёма в варианте с углем составила 77,2–106,8, в суглинке – 114,0, в эмбриозёмах – 108,3–140,1 мм². Учитывая, что площадь самих комочков мелкозёма возрастала от антрацита (31,2–37,8 мм²), к суглинку (41,4 мм²) и затем к эмбриозёмам (43,3–45,1 мм²), вероятно, вследствие разных сил сцепления минеральных частиц, можно предположить, что наиболее бактериально активными были суглинки и эмбриозёмы.

Анализ подвижных форм элементов минерального питания азотобактера на отвале показал, что жизненно важный элемент роста – Са преобладает в почвообразующей породе и эмбриозёмах. Максимум Fe (56 мг/кг) и Mn (50 мг/кг) присутствует в последних (табл. 2). При этом содержание подвижных форм Fe, Zn и Pb также оказалось наибольшим в эмбриозёмах. Возможно, снижению токсичности ТМ способствовало хелатообразование и рН_{водн.} среды (6,4–8,5), не благоприятствующие подвижности катионогенных элементов (которые мигрируют в основном в форме катионов).

Максимальное содержание Мо обнаружено в суглинке, где оно превысило кларк литосферы, в эмбриозёмах – равнялось ему (табл. 3). В щелочной обстановке, которая складывается на отвалах, соединения Мо, как анионогенного элемента, могут проявлять высокую растворимость и усвояемость микроорганизмами. Поглощают Мо как

МОНИТОРИНГ АНТРОПОГЕННО НАРУШЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ

Таблица 1 / Table 1

Статистические показатели роста азотобактера (за сутки)
Statistical indicators of Azotobacter growth (per day)

№	S	M±σ	v, %	Доверительный интервал Confidence interval		НСР SMD p < 0,05
				-95,0%	+95,0%	
1	O	61,2±5,7	9,3	60,3	62,1	0,92
	M	37,8±4,4	11,7	37,1	38,5	0,71
	K	99,0±9,3	9,4	97,5	100,5	1,50
2	O	75,5±8,2	10,8	74,2	76,9	1,32
	M	31,2±4,5	14,3	30,5	32,0	0,72
	K	106,8±11,2	10,5	105,0	108,6	1,81
3	O	46,0±5,5	11,9	45,1	46,9	0,88
	M	31,2±4,6	14,6	30,5	32,0	0,74
	K	77,2±8,8	11,4	75,8	78,6	1,42
4	O	95,0±16,5	17,3	92,4	97,7	2,65
	M	45,1±8,2	18,2	43,7	46,4	1,32
	K	140,1±23,2	16,5	136,3	143,8	3,74
5	O	64,9±9,1	14,0	63,4	66,4	1,47
	M	43,3±6,7	15,5	42,3	44,4	1,08
	K	108,3±14,4	13,3	105,9	110,6	2,33
6	O	72,6±7,4	10,2	71,4	73,7	1,19
	M	41,4±6,3	15,3	40,4	42,4	1,02
	K	114,0±12,2	10,7	112,0	115,9	1,97

Примечание: № – номер пробы; 1 – пластинки угля; 2 – пластинки + крошка угля; 3 – крошка угля; 4 – эмбриозём под щавелем; 5 – эмбриозём под разнотравьем; 6 – суглинок; S – площадь, мм²; O – площадь ореола роста бактерии вокруг комочка мелкозёма; M – площадь комочка мелкозёма; K – суммарная площадь колонии (O+M); НСР – наименьшая средняя разность.

Note: No. – sample number; 1 – plates of coal; 2 – plates + crumb of coal; 3 – crumb of coal; 4 – embryozem under sorrel; 5 – embryozem under motley grass; 6 – loam; S is the area, mm²; O – area of halo of bacteria growth around a lump of fine earth; M is the area of a lump; K is the total area of the colony (O + M); SMD – the smallest mean difference.

Таблица 2 / Table 2

Содержание подвижных форм металлов в разных экотопах, мг/кг
The content of metal mobile forms in different ecotopes, mg/kg

Элемент Element	Суглинок Loam	Выветренный антрацит Weathered anthracite		Молодая почва Young soil	
		пластинки plates	крошка crumb	щавель sorrel	разнотравье motley grass
K	100±18	136±25	131±26	280±42	200±38
Na	154±35	63±18	24±12	29±14	32±16
Ca	4800±410	1000±150	800±66	2700±460	1970±350
Mg	800±84	500±63	250±37	420±47	460±52
Fe	4±1	4±1	10±3	16±6	56±18
Mn	4±1	5±2	14±3	50±17	46±13
Zn	0,7±0,2	1,2±0,4	2,9±1,1	9,3±2,5	4,8±1,3
Cu	0,3±0,1	0,6±0,2	0,4±0,2	0,2±0,1	0,6±0,2
Cd	0,03±0,01	0,02±0,01	0,08±0,03	0,1±0,08	0,06±0,02
Pb	0,6±0,2	0,7±0,2	2,9±1,0	1,5±0,5	1,7±0,6
Co	<0,2	<0,2	<0,2	0,2±0,05	0,6±0,2
Ni	0,9±0,2	0,5±0,2	0,7 ±0,2	0,6±0,1	0,9±0,3

жизнедеятельные клетки, так и покоящиеся. Растущие клетки усваивают его значительно активнее, чем старые. Молибден входит в состав нитрогеназы, благодаря чему участвует в связывании азота атмосферы азотобактером. Кроме этого, Мо вместе с другими элементами с переменной валентностью (Fe, Co, Cu) служит посредником при переносе электронов в окислительно-восстановительных ферментативных реакциях.

Обращает на себя внимание и высокое повсеместное содержание Cd (в количестве, превышающем кларк литосферы и углей). Cd химически очень близок к Zn, способен защищать его в биохимических реакциях, например, выступать как псевдоактиватор, или, наоборот, как ингибитор Zn – содержащих белков и ферментов. Избыток Cd в среде обитания азотобактера может нарушать метаболизм Fe, Ca, Zn, Mg, Cu. Не исключено, что Cd, поглощённый азотобактером, связывается белками – в таком состоянии он менее токсичен, хотя и не безвреден.

Следует подчеркнуть, что в выветренном антраците и эмбриозёмах присутствует мышьяк, который входит в геохимический спектр углей исследуемого бассейна, обнаруживая контрастные аномалии. Как известно, сульфид

мышьяка в воде не растворим и, следовательно, не ядовит. Но он легко окисляется, образуя токсичные оксиды As(III) и As(V), которые вызывают деструктивные изменения в клетке. Кроме этого, мышьяк образует арсенаты щелочных металлов и аммония, которые растворимы в воде. Арсенаты в той или иной степени токсичны, действуют как инсектициды, фунгициды и бактерициды. Они блокируют сульфгидрильные группы, ответственные за ряд реакций клеточного обмена. На отвалах антрацита, где Ca и Pb присутствуют в избытке, арсенаты этих металлов, очевидно, присутствуют. Арсенат кальция содержит до 42% оксида мышьяка(V), ядовит для всего живого. В природных условиях наблюдается переход арсенатов в арсениты, которые наиболее подвижны в нейтральной и щелочной среде. При метилировании арсенитов образуются метилмышьяковистые кислоты. В аэробных условиях образуется триметилсарцин.

В исследуемых нами образцах максимальное содержание As достигало 15,1 мг/кг, что многократно превышало кларк литосферы. В углях США максимум мышьяка составлял 10 мг/кг, в то время как в углях китайской провинции Чжуджоу – 9000 мг/кг [40]. Вместе с тем, риск для некоторых представителей

Таблица 3/ Table 3

Максимальные значения содержания редких, в том числе токсичных и радиоактивных, элементов в разных экотопах на отвале антрацита, мг/кг (по данным РФА-СИ)
The maximum content of rare, including toxic and radioactive elements in the different ecotops in anthracite dump, mg/kg (according to SR-XRF data)

Элемент Element	Почвообразующая порода Soil-forming rock	Выветренный антрацит Weathered anthracite	Эмбриозём Embryozem	Кларк Clarke	
				литосфера* lithosphere*	угли** coal**
Ge	Н.о./ DI	3,0	2,6	1,4	2,9±0,3
Br	24	1,2	3,5	2,1	Н.д./N.d.
Rb	31	140	99	150	16±4
Sr	260	224	115	340	76±23
Y	17	33	29	29	6,0±1,0
Zr	78	280	250	170	41±4
Nb	7,6	19	13	20	1,8±0,9
Mo	9,4	1,6	1,3	1,1	3,0±0,4
Sn	0,39	3,9	3,2	2,5	1±0,2
Sb	2,0	0,6	0,7	0,5	0,5-2,0
As	Н.о./ DI	3,3	15,1	1,7	20±3
Cd	Н.о.	0,38	0,48	0,13	0,6±0,2
Th	Н.о.	14,2	9,6	13	3,5±0,7
U	Н.о./DI	4,3	4,1	2,5	Н.д./N.d.

Примечание: * – по Виноградову [39], ** – по Юдович, Кетрис [1]; Н.д. – нет данных, Н.о. – ниже предела обнаружения метода.

Note: * – according to Vinogradov [39], ** – according to Yudovich, Ketris [1]; N.d. – no data, DI – Below the detection limit.

педобиоты на исследуемых отвалах существует, поскольку ПДК мышьяка для грибов не превышает 0,5 мг/кг [41], для растений в токсичных грунтах – 20 мг/кг [42]. Исходя из обобщённой оценки ИПС [40], острые и хронические эффекты водной и наземной биоты наблюдались при содержании As от нескольких микрограммов до нескольких миллиграммов в 1 л среды (в зависимости от биологического вида и длительности воздействия). Эти эффекты включали в себя летальность, подавление роста, фотосинтеза и репродукции, а также изменение поведения, биоразнообразия. При высоких уровнях загрязнения сохранялись виды, отличающиеся резистентностью к As, что можно, по нашему мнению, отнести и к азотобактеру.

Помимо As, в антраците и эмбриозёмах нами обнаружены радиоактивные металлы – Th и U: значения Th оказались близкими к кларку, а U – в большинстве проб превысил его (табл. 3). Интересно, что Th и U обнаруживают тесную связь с органическим веществом углей: Th образует прочные органоминеральные комплексы, U связан с минеральными микровключениями и кластерами (до 70%) [3]. Торий и уран – это единственные природные радиоактивные элементы, чьи изотопы имеют периоды полураспада, сравнимые с возрастом Земли, поэтому сохранились на нашей планете со времён её формирования. Уран не относится к биофильным элементам, его коэффициент поглощения не превышает, как правило, 10^2 [2].

Судя по 100%-ной заселённости азотобактером мелкозёма лесовидного карбонатного суглинка и почвоподобных образований, а также подвижности инцистированных клеток через 24 часа термостатирования на фоне избытка мышьяка, можно предположить, что U и Th способствовали проявлению радиационного горемезиса. Горметический эффект, вероятно, не случаен. Бактериальная популяция, по-видимому, имеет в своём составе клетки с репарирующими механизмами, генетическим контролем, который выработался в процессе эволюции азотобактера при воздействии на него космических лучей и радиоактивных потоков, исходящих из земной коры. Доказано, что при определённой дозе облучения азотобактера происходит сильное увеличение клеток в размере, но азотфиксирующая активность при этом заметно не изменяется, значительная часть фиксированного азота переходит в растворимую фракцию.

Радиационная устойчивость обнаружена и у других представителей микробного мира.

В условиях естественной и искусственной радиации выживают целлюлозные бактерии, дрожжи, микромицеты, цианобактерии, водоросли. Важную протекторную роль в экстремальных условиях существования выполняют меланинсодержащие соединения, которые обеспечивают выживание, например, грибов в помещении разрушенного реактора Чернобыльской АЭС [43], в загрязнённых радиацией почвах, на расстоянии 10 км от реактора, – пигментированной бактерии р. *Methylobacterium* [44]. В жизнедеятельном состоянии азотобактер обнаружен на фоне радиации и в юго-восточной Азии [45].

Некоторые представители морской микробиоты, в том числе из р. *Azotobacter*, накапливают U в равновесной системе с Th [46]. Естественные радиоактивные элементы могут быть сосредоточены под клеточной оболочкой и на её стенках, в тонкой сфере или мономолекулярном слое различной плотности. В почвах под влиянием тория усиливается азотфиксация азотобактера, а у клубеньковых бактерий повышается способность проникать в ткани корней бобовых растений и образовывать клубеньки [47].

Анализ характера роста колоний азотобактера в наших объектах, показал, что в суглинке, где отсутствовали U и Th, а также As, преобладал мицелиевидный тип роста, в выветренном антраците, содержащем эти элементы, – плоский тип с ослизнением, в эмбриозёмах, где пул As был особенно велик – преобладал ризоидный тип роста с ослизнением (рис. 2). Во всех случаях рост сопровождался выделением в окружающую среду метаболитов, имеющих жёлтые, красные, оранжевые тона, возможно, меланиновой и каротиноидной природы, особенно обильных в выветренном антраците. У гетеротрофных бактерий подобные пигменты выполняют функцию защиты от повреждающего действия видимых и ультрафиолетовых лучей. Следовательно, старовозрастные отвалы антрацита жизнепригодны для аэробной свободноживущей бактерии *Azotobacter chroococcum*. Надо полагать, что включение азотобактера в инновационные технологии, предназначенные для биологической рекультивации углеотвалов, окажется перспективным.

Заключение

Полученные данные позволяют говорить о повсеместной колонизации старовозрастных отвалов аэробной азотфиксирующей бактери-

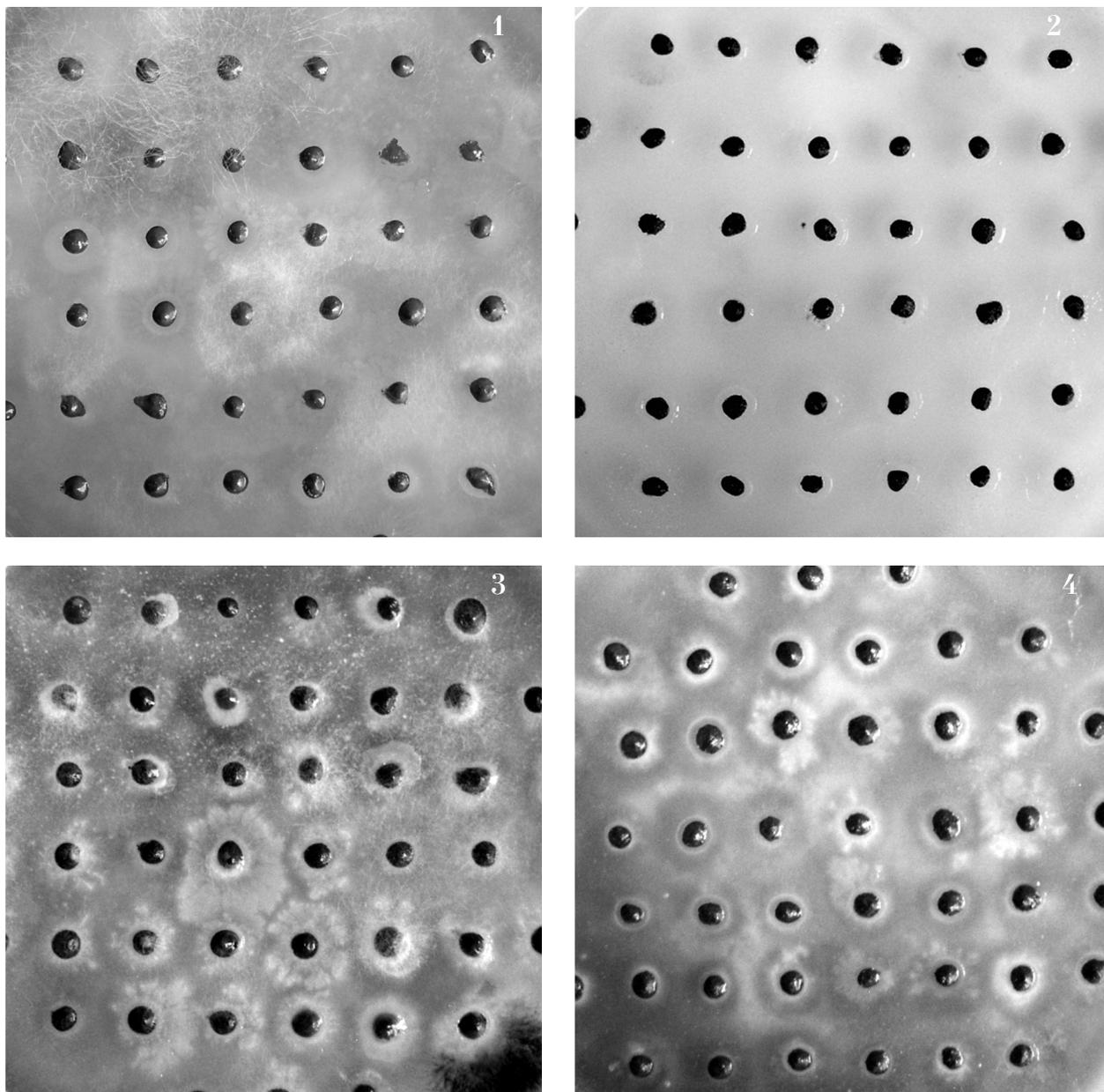


Рис. 2. Полиморфизм *Azotobacter chroococcum* в мелкозёме старовозрастного отвала:
 1 – лёссовидный карбонатный суглинок; 2 – выветренный антрацит; 3, 4 – эмбриозём
Fig. 2. Polymorphism of *Azotobacter chroococcum* in fine-grained old age dump:
 1 – loess-like carbonate loam; 2 – weathered anthracite; 3, 4 – embryozem

ей *Azotobacter chroococcum*, чему способствует гетерогенность популяции.

В почвообразующей породе – лёссовидном карбонатном суглинке, где имеется максимальный запас жизненно важных элементов питания, особенно Мо и Са, активно развиваются штаммы с мицелиевидным характером роста, обеспечивающим быстрое распространение по поверхности минерального субстрата и формирование в нём биогенных свойств. В эмбриозёмах и выветренном антраците, где присутствуют As, тяжёлые и радиоактивные металлы, наследованные от углистых частиц, рост азотобактера снижается. Преобладаю-

щий характер роста его колоний ризоидный. Схожую реакцию на радиацию и токсиканты обнаружили ранее некоторые представители Cyanophyta [48]. Полученные результаты расширяют знания об экологии азотобактера, открывают перспективы для дальнейшего углублённого мониторинга его реакций на геохимическое окружение, а также для разработки научных основ применения бактерии в технологиях ускорения почвообразования на поверхности техногенных отходов.

Месторождения каменных углей, в том числе антрацита, – это национальное природное богатство России, высокий энергетический

и редкометальный потенциал страны, поэтому многоцелевая добыча полезных ископаемых неизбежно ведёт к увеличению почвенных потерь. Сведения об эколого-геохимических особенностях вскрышных пород углей и формировании в них биогенных свойств пока единичны, что, возможно, свидетельствует о недостаточном внимании к среде обитания всего живого. Полученные данные об особенностях развития азотобактера на старовозрастных отвалах метаморфита частично восполняют этот пробел, подтверждают необходимость проведения комплексного эколого-биогеохимического мониторинга техногенных ландшафтов, выявления специфики перехода предпочвы в почву с учётом метаморфизма углей.

Работа выполнена в рамках проектов НИР ИПА СО РАН VI.3 и ИНГГ СО РАН IX.138.3.1, при частичной финансовой поддержке РФФИ (грант № 17-05-00056).

Литература

1. Юдович Я.Э., Кетрис М.П. Неорганическое вещество углей. Екатеринбург: УрО РАН, 2002. 422 с.
2. Юдович Я.Э., Кетрис М.П. Токсичные элементы – примеси в ископаемых углях. Екатеринбург: УрО РАН, 2005. 655 с.
3. Арбузов С.И., Ершов В.В. Геохимия редких элементов в углях Сибири. Томск: Д-Принт, 2007. 468 с.
4. Постановление Главного санитарного врача РФ от 28 августа 2017 г. № 120 «Об установлении размера санитарно-защитной зоны для имущественного комплекса горнотранспортной части Ургунского участка разреза «Горловский» ЗАО «Сибирский антрацит», расположенного на территории Искитимского района Новосибирской области». [Электронный ресурс] http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_278339/ (Дата обращения: 02.10.2017).
5. Придачина Н.Н. Биологически активные вещества из клеточных липидов азотфиксирующей бактерии *Azotobacter chroococcum*: Дисс. ... канд. биол. наук. М., 1984. 146 с.
6. Ebrahimi S., Iran Nejad H., Shirani Rad A.Y., Abbas Akbari G., Amiry R., Modarres Sanavy S.A.M. Effect of *Azotobacter chroococcum* application on quantity and quality forage of rapeseed cultivars // Pakistan Journal of Biological Sciences. 2007. No. 10. P. 3126–3130.
7. Akond Ali M., Mubassara S., Rahman Motiur M. Distribution and abundance of *Azotobacter* in wheat fields of Bangladesh // Bangladesh Journal of Microbiology. 2007. V. 24. No. 2. [Электронный ресурс] <http://dx.doi.org/10.3329/bjm.v24i2.1262> (Дата обращения: 17.01.2018).
8. Ramakrishnaian G., Vijaya T., Mouli Chandra K. Studies on effect of VAM, phosphate solubilization bacteria and *Azotobacter* on biochemical aspects of *Stevia rebaudiana* (Bert.) – an emerging nutraceutical plant // Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences Paper. 2010. V. 12. No. 1. P. 19–22.
9. Sabeti Amirhanded M.A. Effect of nitrogen fertilizer and *Azotobacter chroococcum* on yield and nitrogen content of flue-cure Tobacco leaf // Proceedings of State Agrarian University of Armenia. 2011. No. 2. P. 46–49.
10. Khan S., Pariari A. Effect of N-fixing biofertilizers on growth, yield and quality of Chilli (*Capsicum annum L.*) // The Bioscan an International Quarterly Journal of Life Sciences. 2012. V. 7 (3). P. 481–482.
11. Jnavali A.D., Ojha R.B., Marahatta S. Role of *Azotobacter* in soil fertility and sustainability – a review // Advantes in Plants and Agriculture Research. 2015. V. 2 (6). P. 1–5.
12. Amirhandeh M.S., Nosratabad A.F., Norouzi M., Yaryutyunyan S. Response of coker (flue-cured) tobacco (*Nicotiana tabacum*) to inoculation with *Azotobacter chroococcum* at various levels of nitrogen fertilization // Australian Journal of Crop Science. 2012. V. 6 (5). P. 861–868.
13. Soleimanzadeh Y., Gooshchi F. Effect of *Azotobacter* and nitrogen chemical fertilizer on yield components of wheat (*Triticum aestivum L.*) // World Applied Sciences Journal. 2013. V. 21 (8). P. 1176–1180.
14. Ghalem M., Tifrit A., Daouadji K.L., Labdi M., Abbouni B. Effect of diazotrophic plant growth promoting rhizobacteria on seed germination of chickpea (*Cicera rietinum L.*) // Der Pharmacia Lettre. 2015. V. 7 (10). P. 202–210.
15. Мацкова Ю.А., Олюнина Л.Н., Сухов В.С., Неруш В.Н., Синицына Ю.В., Веселов А.П. Влияние продуцирующих индолил-3-уксусную кислоту бактерий *Azotobacter chroococcum* 66 и *Pseudomonas putida* NBR 9 на термоустойчивость проростков пшеницы (*Triticum aestivum L.*) // Фундаментальные исследования. 2015. № 7–4. С. 682–686.
16. Sokolova M.G., Akomova G.P., Verkhoturov V.V., Vaishila O.B. Aminoacid composition of wheat grain gluten under microbe impact // Journal of Stress Physiology and Biochemistry. 2012. V. 8. No. 4. P. 16–26.
17. Емцев В.Т., Чумаков М.И. Об эффективности азотфиксирующего ассоциативного симбиоза у небобовых растений // Почвоведение. 1990. № 11. С. 116–126.
18. Новикова Т.И., Аветисов Л.А. Физиолого-биохимические аспекты симбиоза // Биологическая фиксация азота. Новосибирск: Наука, 1991. С. 95–139.
19. Новикова Т.И. Структурно-функциональные особенности бобово-ризобияльного симбиоза: Автореф. ... докт. биол. наук. Новосибирск, 2004. 32 с.
20. Трофимов С.С., Наплёкова Н.Н., Кандрашин Е.Р., Фаткулин Ф.А., Стебаева С.К. Гумусообразование в техногенных экосистемах. Новосибирск: Наука, 1986. 165 с.
21. Сассон А. Биотехнология: свершения и надежды. М.: Мир, 1987. 411 с.

22. Dalovic I., Josic D., Mrkovacki N., Pivic R., Bekavac G., Jockovic D. The Competitiveness of *Azotobacter*, *Pseudomonas* and *Bacillus* applied as a mixture inoculum in rhizosphere of five vaize genotyping and phenotyping methods // IV International Symposium "Agrosym 2013". P. 382–385.

23. Chen J.H., Czajka D.R., Lion L.W., Shuler M.L., Ghiorse W.C. Trace metal mobilization in soil by bacterial polymers // Environmental Health Perspectives. 1995. V. 103. No. 1. С. 53–58.

24. Pathan A.N., Pethe A.S. Studies of melanin producing bacteria and extraction of bacterial melanin from sewage water // International Journal of Applied Research. 2016. V. 2 (6). P. 413–415.

25. Shivprasad S., Page W.J. Catechol formatio and melanization by Na⁺-dependent *Azotobacter chroococcum*: protective mechanism for aeroadaptation? // Applied and Environmental Microbiology. 1989. V. 55. No. 7. P. 1811–1817.

26. Boyd W.L., Boyd J.W. Presence of *Azotobacter* species in Polar Regions // Journal of Bacteriology. 1962. V. 83. No. 2. P. 429–430.

27. Moreno J., Gonzalez-Lopez J., Vela G.R. Survival of *Azotobacter* spp. in dry soils // Applied and Environmental Microbiology. 1986. V. 51. No. 1. P. 123–125.

28. Придачина Н.Н., Новогрудская Е.Д., Чекакина Е.В., Круляк Е.Б., Батраков С.Г. *Azotobacter chroococcum* – продуцент нового противогрибкового антибиотика // Антибиотики. 1982. № 1. С. 3–5.

29. Kumari Lakshmi M., Vijayalashmi V., Subba Rao N.S. Interaction between *Azotobacter* species and fungi // Phytopathol. 1972. V. 75. P. 27–30.

30. Gospodaryov D., Lushchak V. Some properties of melanin produced by *Azotobacter chroococcum* and its possible application in biotechnology // Biotechnologia Acta. 2011. V. 4. No. 2. P. 61–69.

31. Rasulov B.A., Ksanov R.K., Pattaeva M.A., Khokhlacheva V.E., Begmatova G.N. Syntesis of silver nanoparticles based on the exopolisaccharide of *Azotobacter chroococcum* 79 (1) and their antifungal activity // Academy of sciences of the republic of Uzbekistan. Contents and annotations. 2016. No. 2 [Электронный ресурс] <http://academy.uz/en/news/163> (Дата обращения: 15.01.2018).

32. Shirkhani A., Nasrolahzadeh S. Vermicompost and *Azotobacter* as an ecological pathway to decrease chemical fertilizers in the maize, *Zea mays* // Biosci. Biotech. Res. Comm. 2016. V. 9 (3). P. 382–390.

33. Galehdari H., Alae S., Mirzaee M. Cloning of poly (3-hydroxybutyrate) synthesis genes from *Azotodacter vinelandii* into *Escherichia coli* // Jundishapur Journal of Microbiology. 2009. V. 2 (1). P. 31–35.

34. Шильникова В.К. Бактерии и актиномицеты / Жизнь растений. Т. I. М.: Просвещение, 1974. С. 377–384.

35. Виноградский С.Н. Микробиология почвы (проблемы и методы). М.: Академия наук СССР, 1952. 792 с.

36. Тихова В.Д., Фадеева В.П. Анализ состава и структурных особенностей гуминовых кислот, почв, торфов и углей Сибирского региона / Химический анализ в геологии и геохимии. Новосибирск, 2016. С. 518–542.

37. Постникова М.А. Использование гуминовых кислот почвенными бактериями: Автореф. ... дис. канд. биол. наук. М., 2007. 25 с.

38. Артамонова В.С., Бортникова С.Б., Оплеухин А.А. Техногенное загрязнение почв подотвальными водами в районе угледобычи // Известия Коми УрО РАН. 2016. № 4 (28). С. 38–45.

39. Виноградов А.П. Среднее содержание химических элементов в главных типах изверженных горных пород земной коры // Геохимия. 1962. № 7. С. 555–571.

40. Мышьяк и его соединения [Электронный ресурс] <http://toxi.dyndns.org/base/nonorganic/Arsenicum.htm> / Дата обращения: 14.09.2017)

41. СанПин 2.3.2.1078-01. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. М., 2002. 273 с.

42. Методические указания по оценке городских почв при разработке градостроительной и архитектурно-строительной документации. М., 1996. 17 с.

43. Гесслер Н.Н., Егорова А.С., Белозерская Т.А. Меланиновые пигменты грибов в экстремальных условиях существования (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2014. Т. 50. № 2. С. 125–134.

44. Romanovskaya V.V., Malashenko Y.R., Sokolov I.G. Influence of prolonged nuclear radiation as result of Chernobyl accident on diversity of soil bacteria // Abstr. International union of microbiological societies. IUMS CONGRESSES – 1996; 8th International congress of bacteriology and applied microbiology division. Jerusalem, Israel, 1996. P. 74.

45. Summary of country reports on production of super water absorbent (SWA) by radiation processing [Электронный ресурс] www.fnca.mext.go.jp/english/cb/e_ws_2012_3b. (Дата обращения: 17.01.2018).

46. Пшенин Л.Н. Биология морских азотфиксаторов. Киев: Наукова думка. 1966. 267 с.

47. Красильников Н.А. Микроорганизмы почвы и высшие растения. М.: Изд-во АН СССР. 1958. 564 с.

48. Шестаков С.В. Мутационная изменчивость синезелёных водорослей / Актуальные проблемы биологии синезелёных водорослей. М.: Наука, 1974. С. 18–37.

References

1. Yudovich Ya.E., Ketris M.P. Inorganic matter of coals. Ekaterinburg: PH UrO RAS, 2002. 422 p. (in Russian).

2. Yudovich Ya.E., Ketris M.P. Toxic and potentially toxic elements of fossil coals. Ekaterinburg: PH UrO RAS. 2005. 655 p. (in Russian).

3. Arbuzov S.I., Ershov V.V. Geochemistry of rare elements in coals of Siberia. Tomsk: PH «Print», 2007. 468 p. (in Russian).

4. Resolution of the Main State Sanitary Physician of the RF, August 28, 2017 No. 120 "On establishment of size of the sanitary protection zone for the property complex of the Urgun mining section of the "Gorlovsky" section of the Siberian Anthracite CJSC located in the Iskitimsky district of the Novosibirsk Region [Internet resource] http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_278339/ (Accessed: 02.10.2017) (in Russian).
5. Pridachina N.N. Biologically active substances from cellular lipids of nitrogen-fixing bacteria *Azotobacter chroococcum*: Diss. ... kand. biol. nauk. Moskva, 1984. 146 p. (in Russian).
6. Ebrahimi S., Iran Nejad H., Shirani Rad A.Y., Abbas Akbari G., Amiry R., Modarres Sanavy S.A.M. Effect of *Azotobacter chroococcum* application on quantity and quality forage of rapeseed cultivars // Pakistan Journal of Biological Sciences. 2007. No. 10. P. 3126–3130.
7. Akond Ali M., Mubassara S., Rahman Motiur M. Distribution and abundance of *Azotobacter* in wheat fields of Bangladesh // Bangladesh Journal of Microbiology. 2007. V. 24. No. 2. [Internet resource] <http://dx.doi.org/10.3329/bjm.v24i2.1262> (Accessed: 17.01.2018).
8. Ramakrishnaian G., Vijava T., Mouli Chandra K. Studies on effect of VAM, phosphate solubilization bacteria and *Azotobacter* on biochemical aspects of *Stevia rebaudiana* (Bert.) – an emerging nutraceutical plant // Asian Journal of Microbiology, Biotechnology And Environmental Sciences Paper. 2010. V. 12. No. 1. P. 19–22.
9. Sabeti Amirhanded M.A. Effect of nitrogen fertilizer and *Azotobacter chroococcum* on yield and nitrogen content of flue-cure Tobacco leaf // Proceedings of State Agrarian University of Armenia. 2011. No. 2. P. 46–49.
10. Khan S., Pariari A. Effect of N-fixing biofertilizers on growth, yield and quality of Chilli (*Capsicum annum L.*) // The Bioscan an International Quarterly Journal of Life Sciences. 2012. V. 7 (3). P. 481–482.
11. Jnavali A.D., Ojha R.B., Marahatta S. Role of *Azotobacter* in soil fertility and sustainability-a review // Advances in Plants and Agriculture Research. 2015. V. 2 (6). P. 1–5.
12. Amirhandeh M.S., Nosratabad A.F., Norouzi M., Yaryutyunyan S. Response of coker (flue-cured) tobacco (*Nicotiana tabacum*) to inoculation with *Azotobacter chroococcum* at various levels of nitrogen fertilization // Australian Journal of Crop Science. 2012. V. 6 (5). P. 861–868.
13. Soleimanzadeh Y., Gooshchi F. Effect of *Azotobacter* and nitrogen chemical fertilizer on yield components of wheat (*Triticum aestivum L.*) // World Applied Sciences Journal. 2013. V. 21 (8). P. 1176–1180.
14. Ghalem M., Tifrit A., Daouadji K.L., Labdi M., Abbouni B. Effect of diazotrophic plant growth promoting rhizobacteria on seed germination of chickpea (*Cicera rietinum L.*) // Der Pharmacia Lettre. 2015. V. 7 (10). P. 202–210.
15. Matskova Yu.A., Olyunina L.N., Sukhov V.S., Nerush V.N., Sinityna Yu.V., Veselov A.P. Influence of indole-3-acetic acid-producing bacteria *Azotobacter chroococcum* 66 and *Pseudomonas putida* NBR9 on the heat resistance of wheat germs (*Triticum aestivum L.*) // Fundamentalnyye issledovaniya. 2015. No. 7–4. P. 682–686 (in Russian).
16. Sokolova M.G., Akomova G.P., Verkhoturov V.V., Vaishila O.B. Aminoacid composition of wheat grain gluten under microbe impact // Journal of Stress Physiology and Biochemistry. 2012. V. 8. No. 4. P. 16–26 (in Russian).
17. Emtsev V.T., Chumakov M.I. On the effectiveness of nitrogen-fixing associative symbiosis in non-sky plants // Pochvovedenie. 1990. No. 11. P. 116–126 (in Russian).
18. Avetisov L.A. Physiological and biochemical aspects of symbiosis / Biological fixation of nitrogen. Novosibirsk: Nauka, 1991. P. 95–138 (in Russian).
19. Novikova T.I. The Structural and functional properties of leguminose-rhizobial symbiosis: Avtoref. ... doct. biol. nauk. Novosibirsk, 2004. 32 p. (in Russian).
20. Trofimov S.S., Naplekova N.N., Kandrashin E.R., Fatkulin F.A., Stebaeva S.K. Humus formation in technogenic ecosystems. Novosibirsk: Nauka, 1986. 165 p. (in Russian).
21. Sasson A. Biotechnology: accomplishments and hopes. Moskva: Mir, 1987. P. 151–195 (in Russian).
22. Dalović I., Josić D., MRkovački N., Pivić R., Bekavac G., Jocković D. The competitiveness of *Azotobacter*, *Pseudomonas* and *Bacillus* applied as a mixture inoculum in rhizosphere of five vavilina genotyping and phenotyping methods // IV International Symposium «Agrosym 2013». P. 382–385.
23. Chen J.H., Czajka D.R., Lion L.W., Shuler M.L., Ghiorse W.C. Trace metal mobilization in soil by bacterial polymers // Environmental Health Perspectives. 1995. V. 103. No. 1. P. 53–58.
24. Pathan A.N., Pethe A.S. Studies of melanin producing bacteria and extraction of bacterial melanin from sewage water // International Journal of Applied Research. 2016. V. 2 (6). P. 413–415.
25. Shivprasad S., Page W.J. Catechol Formation and melanization by Na⁺-dependent *Azotobacter chroococcum*: Protective mechanism for aeroadaptation? // Applied and Environmental Microbiology. 1989. V. 55. No. 7. P. 1811–1817.
26. Boyd W.L., Boyd J.W. Presence of *Azotobacter* species in Polar Regions // Journal of Bacteriology. 1962. V. 83. No. 2. P. 429–430
27. Moreno J., Gonzalez-Lopez J., Vela G.R. Survival of *Azotobacter* spp. in dry Soils // Applied and Environmental Microbiology. 1986. V. 51. No. 1. P. 123–125.
28. Pridachina N.N., Novogrudskaia E.D., Chekasina E.V., Kruglyak E.B., Batrakov S.G. *Azotobacter chroococcum* – producer of a new antifungal antibiotic // Antibiotiki. 1982. No. 1. P. 3–5 (in Russian).
29. Kumari Lakshmi M., Vijayalashmi V., Subba Rao N.S. Interaction between *Azotobacter* species and fungi // Phytopathol. 1972. V. 75. P. 27–30.

30. Rasulov B.A., Ksanov R.K., Pattaeva M.A., Khokhlacheva V.E., Begmatova G.N. Synthesis of silver nanoparticles based on the exopolysaccharide of *Azotobacter chroococcum* 79 (1) and their antifungal activity // Academy of Sciences of the republic of Uzbekistan. Contents and annotations. 2016. No. 2 [Internet resource] <http://academy.uz/en/news/163> ((Accessed: 15.01.2018).
31. Shirkhani A., Nasrolahzadeh S. Vermicompost and *Azotobacter* as an ecological pathway to decrease chemical fertilizers in the maize, *Zea mays* // Biosci. Biotech. Res. Comm. 2016. V. 9 (3). P. 382–390.
32. Gospodaryov D., Lushchak V. Some properties of melanin produced by *Azotobacter chroococcum* and its possible application in biotechnology // Biotechnologia Acta. 2011. V. 4. No. 2. P. 61–69.
33. Galehdari H., Alaei S., Mirzaee M. Cloning of poly (3-hydroxybutyrate) synthesis genes from *Azotobacter vinelandii* into *Escherichia coli* // Jundishapur Journal of Microbiology. 2009. V. 2 (1). P. 31–35.
34. Shilnikova V.K. Bacteria and actinomycetes / Life of plants. T. I. Moskva: PH «Prosveshchenie», 1974. P. 377–384. (in Russian).
35. Vinogradsky S.N. Microbiology of soil (problems and methods). Moskva: AS USSR, 1952. 792 p. (in Russian).
36. Tichova V.D., Fadeeva V.P. Analysis of the composition and structural features of humic acids, soils, peats and coals of the Siberian region / Chemical analysis in geology and geochemistry. Novosibirsk: Geo, 2016. P. 518–542 (in Russian).
37. Postnikova M.A. The use of humic acids by soil bacteria: Avtoref. ... kand. biol. nauk. Moskva, 2007. 25 p. (in Russian).
38. Artamonova V.S., Bortnikova S.B., Opleuchin A.B. Technogenic contamination of soils by drainage water in the area of coal mining // Izvestiya Komi UrO RAS. 2016. No. 4 (28). P. 38–45 (in Russian).
39. Vinogradov A.P. The average content of chemical elements in the main types of igneous rocks of the earth's crust // Geochimiya. 1962. No. 7. P. 555–571 (in Russian).
40. Arsenic and its compounds [Internet resource] <http://toxi.dyndns.org/base/nonorganic/Arsenicum.htm/> (Accessed: 14.09.2017).
41. SanPin 2.3.2.1078-01. Hygienic requirements for food safety and nutritional value. Moskva, 2002. 273 p. (in Russian).
42. Methodical guidelines for the evaluation of urban soils in the development of urban planning and architectural and construction documentation. Moskva, 1996. 17 p. (in Russian).
43. Gessler N.N., Egorova A.S., Belozerskaya T.A. Melanin pigments of fungi in extreme conditions of existence (review) // Applied Biochemistry and Microbiology. 2014. V. 50. No. 2. P. 125–134 (in Russian).
44. Romanovskaya V.V., Malashenko Y.R., Sokolov I.G. Influence of prolonged nuclear radiation as result of Chernobyl accident on diversity of soil bacteria // Abstr. International union of microbiological societies. IUMS CONGRESSES – 1996; 8th International congress of bacteriology and applied microbiology division. Jerusalem, Israel, 1996. P. 74.
45. Summary of country reports on production of super water absorbent (SWA) by radiation processing [Internet resource] http://www.fnca.mext.go.jp/english/cb/e_ws_2012_3b. (Accessed: 17.01.2018).
46. Pshenin L.N. Biology of marine nitrogen fixators. Kiev: Naukova dumka, 1966. 267 p. (in Russian).
47. Krasilnikov A.P., Romanovskaya T.R. Microbiological dictionary-guide. Minsk: Asar, 1999. 400 p. (in Russian).
48. Shestakov S.V. Mutational variability of blue-green algae / Actual problems of biology of blue-green algae. Moskva: Nauka, 1974. P. 18–37.