

ОЦЕНКА ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ
НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОГО ЧЕРНОЗЕМА ПОСЛЕ БИОРЕМЕДИАЦИИ

Т.В. МИННИКОВА, А.С. РУСЕВА, С.И. КОЛЕСНИКОВ

(Южный федеральный университет)

Оценка экологического состояния почв по показателям ферментативной активности при ремедиации нефтяного загрязнения является весьма информативной. Активность ферментов классов оксидоредуктаз и гидролаз в черноземе наиболее чувствительна при загрязнении тяжелыми металлами, пестицидами и при других видах антропогенного воздействия. Информативность и чувствительность ферментов при ремедиации нефтезагрязненных почв изучены в недостаточной степени. Была изучена активность 7 ферментов классов оксидоредуктаз и гидролаз почвы, загрязненной нефтью после применения биочара, гумата натрия, нитроаммофоса и «Байкала ЭМ-1». Через 90 сут. от момента внесения ремедиантов в почву оценивали ферментативную активность почв по изменению активности каталазы, дегидрогеназ, пероксидаз, ферриредуктаз, инвертазы, уреазы и фосфатазы. Оценивали интегральный показатель биологической активности почв (ИПБА) и среднее геометрическое ферментативной активности почв по классам оксидоредуктаз ($GMea (OX)$) и гидролаз ($GMea (HD)$). При ремедиации нефтезагрязненного чернозема стимулирующее воздействие на активность оксидоредуктаз и гидролаз почвы оказывает концентрация $D_{0,5}$ биочара и «Байкала ЭМ-1», а на активность нитроаммофоса и гумата натрия – D_2 . При дозе $D_{0,5}$ нитроаммофоса и биочара установлена максимальная стимуляция ИПБА относительно контроля и нефтезагрязнения. Внесение нитроаммофоса стимулировало активность 3 из 7 ферментов, а внесение биочара стимулировало активность 5 из 7 ферментов относительно нефтезагрязнения. Наибольшая эффективность нитроаммофоса в большей степени обусловлена чрезмерной стимуляцией активности уреазы чернозема обыкновенного. Значения средних геометрических ферментативной активности ($GMea$) оксидоредуктаз и гидролаз были простимулированы относительно контроля при дозе $D_{0,5}$ каждого ремедианта. Ряд чувствительности ферментов нефтезагрязненного чернозема после внесения ремедиантов от наиболее чувствительного к наименее: ферриредуктазы > пероксидазы > уреазы > фосфатаза > дегидрогеназы > инвертаза > каталаза. По степени восстановления ферментативной активности почв ремедианты можно расположить в следующем порядке, % от нефтезагрязнения: нитроаммофос > биочар > гумат натрия > «Байкал ЭМ-1». При ремедиации нефтезагрязненного чернозема наиболее стимулирующее воздействие на активность оксидоредуктаз и гидролаз почвы оказывает ремедиант в концентрации $D_{0,5}$. Для биодиагностики экологического состояния нефтезагрязненных черноземных почв рекомендуем использовать активность ферриредуктаз, пероксидаз, уреазы и фосфатазы.

Ключевые слова: загрязнение, черноземная почва, биочар, гумат натрия, нитроаммофос, «Байкал ЭМ-1», оксидоредуктазы, гидролазы, интегральный показатель биологической активности, среднее геометрическое ферментативной активности, биодиагностика, устойчивость почв.

Введение

Состояние нефтезагрязненных почв после ремедиации требует контроля не только содержания нефти, но и биологических показателей, характеризующих ее экологическое состояние [1–5]. Поэтому наряду с физико-химическими и химическими показателями важно оценивать биохимические свойства загрязненных почв – в частности, ферментативную активность [6, 7]. Информативность и чувствительность ферментов при загрязнении тяжелыми металлами, нефтью и нефтепродуктами при неправильной агротехнической нагрузке и других видах антропогенного воздействия были изучены ранее [8–14]. Однако недостаточными являются исследования по оценке восстановления ферментативной активности нефтезагрязненной почвы после применения ремедиантов.

Ферменты классов оксидоредуктаз, гидролаз и трансфераз почв участвуют в основных процессах гумификации почв и катализируют перенос отдельных радикалов, частей молекул и целых молекул с одних соединений на другие [14–18]. В связи с этим высокая ферментативная активность – это важный показатель экологического состояния и плодородия почвы. Ферменты в почве осуществляют функциональные связи между всеми звеньями экосистемы [19, 20]. При загрязнении почв нефтью и нефтепродуктами плодородие почв снижается в связи с нарушением физико-химического состояния и экосистемных функций почвы [21–24].

При нефтяном загрязнении почв происходит смещение равновесия между углеродом и азотом за счет привноса углерода нефти. Изменение соотношения между С: N влияет, в том числе, на процессы нитрификации в почве, течение циклов углерода, фосфора и азота. Ферменты отвечают за превращения в цикле углерода (инвертаза, амилаза, глюкозидаза), азота (уреаза, амидаза) и фосфора (фосфатаза) [25–29]. В связи с этим использование показателей ферментативной активности почв для оценки состояния и степени восстановления после загрязнения является достаточно эффективным.

Цель исследований: оценить ферментативную активность нефтезагрязненного чернозема после ремедиации. Для реализации цели были поставлены следующие задачи: 1) оценить активность почвенных ферментов из класса оксидоредуктаз и гидролаз в опытном черноземе обыкновенном; 2) провести оценку применимости каждого ремедианта в трех дозировках по интегральным показателям биологической активности чернозема (ИПБА); 3) проанализировать степень восстановления ферментативной активности почв каждого класса по среднему геометрическому ферментов класса оксидоредуктаз (GMea(OX)) и гидролаз (GMea(HD)).

Материал и методика исследований

Для оценки ферментативной активности чернозема после ремедиации моделировали лабораторный эксперимент. Почва – чернозем обыкновенный (пашня, 0–20 см, Ботанический сад Южного федерального университета). Для оценки состояния нефтезагрязненной почвы (5% нефти от массы почвы) по показателям ферментативной активности исследовали внесение биочара (5% от массы почвы), нитроаммофоса (0,2% от массы почвы), гумата натрия (0,5% раствор) и «Байкал ЭМ-1» (2%-ный раствор). Дозировки ремедиантов взяты из рекомендаций к применению веществ и по авторской методике: рекомендуемая концентрация (D_1), в 2 раза меньше от рекомендуемой ($D_{0,5}$) и в 2 раза больше рекомендуемой (D_2).

Для проведения лабораторно-аналитических исследований использовали стандартные в экологии и биологии почв методы [30]. Оценка ферментативной активности проводили по активности следующих ферментов: активность каталазы (по А.Ш. Галстяну, волнометрическим способом), активность дегидрогеназ (по А.Ш. Галстяну, с фотокolorиметрическим окончанием), активность инвертазы (по Ф.Х. Хазиеву, с фотокolorиметрическим

окончанием), активность пероксидаз (по Л.А. Карягиной, Н.А. Михайловой, с фотоколориметрическим окончанием), активность ферриредуктаз (по А.Ш. Галстяну, Н.А. Оганесяну, с фотоколориметрическим окончанием), активность фосфатазы (по А.Ш. Галстяну и Э.А. Арутюнян), активность уреазы (по Ф.Х. Хазиеву).

Таблица 1

Методы определения ферментативной активности почв [30]

№	Название фермента	Классификация	Метод определения, единицы измерения
1	Активность каталазы	H_2O_2 ; H_2O_2 – оксидоредуктаза, КФ 1.11.1.6	Волюметрический метод по скорости разложения перекиси водорода, мл O_2 в 1 г почвы за 1 мин
2	Активность дегидрогеназ	субстрат: НАД (Ф) – оксидоредуктаза, КФ 1.1.1	По интенсивности восстановления в анаэробных условиях трифенилтетразолия хлористого (ТТХ) до трифенилформазанов (ТФФ), мг ТФФ в 10 г почвы за 24 ч
3	Активность пероксидаз	донор: H_2O_2 – оксидоредуктаза, КФ 1.11.1.7	Колориметрическим методом по окислению гидрохинона в хиноны, мг 3,4 бензохинона в 1 г почвы за 30 мин
4	Активность ферриредуктаз	НАД (Ф) × H_2 : Fe_2O_3 – оксидоредуктазы, КФ 1.6.99	Колориметрическим методом по количеству восстановленного трехвалентного железа, мг Fe_2O_3 в 100 г почвы за 48 ч
5	Активность инвертазы	β -фруктофуранозидаза, сахараза, КФ 3.2.1.26	Колориметрическим методом по изменению содержания редуцирующих сахаров, мг глюкозы в 1 г почвы за 24 ч
6	Активность фосфатазы	фосфогидролазы моноэфиров ортофосфорной кислоты, КФ 3.1.3.1–2	Колориметрическим методом по изменению содержания нитрофенолов с образованием органического фосфора и минеральных субстратов, мкг п-нитрофенола в 1 г почвы за 1 ч
7	Активность уреазы	карбамид – амидогидролаза, КФ 3.5.1.5	Гидролиз карбамида до аммиака и углекислого газа, мг NH_3 в 10 г почвы за 24 ч

По усредненным значениям активности всех почвенных ферментов (активности каталазы, дегидрогеназ, пероксидаз, ферриредуктаз, инвертазы, фосфатазы, уреазы) рассчитывали интегральный показатель биологической активности почв (ИПБА) по формуле 1 [21]:

$$ИПБА = \frac{A_1}{A_{1\text{контр}}} \times 100\%. \quad (1)$$

Рассчитывали среднее геометрическое ферментативной активности (GMea) по формуле 2 и 3 [31]:

$$A_1 = \frac{A_{оп}}{A_{контр}} \times 100\%, \quad (2)$$

где $A_1, A_2 \dots A_n$ – относительные баллы для каждого из показателей ферментативной активности, %. Итоговый расчет GMea представлен по формуле 3:

$$GMea = \sqrt[n]{A_1 + A_2 + \dots + A_n}. \quad (3)$$

Комплексный характер показателя GMea позволяет оценить отклик ферментов разных классов, что отражает совокупность происходящих в почве процессов восстановления или деградации. Этот показатель наряду с ИПБА можно использовать для биоиндикации и оценки состояния почв при различных видах антропогенной нагрузки [13, 21, 32].

Статистическая обработка полученных данных была проведена с использованием программного пакета Statistica 12.0. Средние значения и дисперсия были определены, а надежность различных образцов установлена с использованием дисперсионного анализа (Student t-test).

Результаты и их обсуждение

Изменение активности оксидоредуктаз. Активность каталазы и дегидрогеназ загрязненной почвы при внесении биочара D_1 достоверно не отличалась от контроля по сравнению с $D_{0,5}$ и D_2 (рис. 1). Активность пероксидаз и ферриредуктаз была простимулирована для биочара D на 39 и 13% относительно контроля. Гумат натрия и «Байкал ЭМ-1» в любой концентрации благотворно влияли на активность всех изученных оксидоредуктаз, кроме ферриредуктаз, для которых дозы $D_{0,5}$ и D_2 гумата натрия и дозы $D_{0,5}$ и D_1 «Байкала ЭМ-1» ингибировали на 40–90% относительно контроля. «Байкал ЭМ-1» в дозах D_1 и D_2 оказывал ингибирующее воздействие на активность дегидрогеназ на 11 и 16% соответственно.

При внесении биочара в нефтезагрязненный чернозем стимуляцию активности каталазы, пероксидаз и ферриредуктаз наблюдали при рекомендуемой дозе биочара D_1 . Однако активность пероксидаз также была на уровне контроля и больше контроля при дозах биочара $D_{0,5}$ и D_2 . Стимулирующее воздействие оказывал нитроаммофос на активность ферриредуктаз при дозах $D_{0,5}$ и D_2 относительно нефтезагрязнения (до уровня контроля). Активность каталазы и дегидрогеназ была простимулирована при D_2 нитроаммофоса на 18 и 27%. Гумат натрия стимулировал активность пероксидаз при любой дозе до уровня контроля на 13% выше, чем при нефтезагрязнении. Стимуляция активности ферриредуктаз при D_2 гумата натрия на 18% выше, чем в контроле, и на 114% выше, чем при нефтезагрязнении. Гумат стимулировала активность каталазы и дегидрогеназ при дозе $D_{0,5}$ на 11 и 10% относительно нефтезагрязнения. «Байкал ЭМ-1» в дозах $D_{0,5}$ и D_2 стимулировал активность пероксидаз до уровня контроля и на 20% выше, чем в контроле, соответственно. Активность каталазы нефтезагрязненного чернозема «Байкал ЭМ-1» ингибировала. Активность дегидрогеназ была простимулирована при $D_{0,5}$ и D_1 «Байкал ЭМ-1» на 8–10%.

По чувствительности ферментов-оксидоредуктаз нефтезагрязненного чернозема после внесения ремедиантов был составлен ряд (от наиболее чувствительного к наименее чувствительному): *ферриредуктазы > пероксидазы > дегидрогеназы > каталаза.*

Самая высокая способность к восстановлению при добавлении в нефтезагрязненную почву обнаружена по активности ферриредуктаз, пероксидаз и дегидрогеназ. Активность ферриредуктаз непосредственно связана с концентрацией оксидов железа в почве и содержанием тяжелых металлов как примесей в нефти [33–36]. При внесении биочара, нитроаммофоса и «Байкала ЭМ-1» установлена стимуляция активности ферриредуктаз – вероятно, за счет снижения мобильности тяжелых металлов в нефти и повышения скорости разложения токсичных составляющих нефти микробиотой.

Пероксидазы и дегидрогеназы отвечают за превращение циклов углерода в почве и синтез гумусовых веществ. Поэтому при снижении содержания углерода из нефтепродуктов при внесении биоремедиантов, в частности, биочара «Байкала ЭМ-1» и гумата натрия, активность этих ферментов стимулируется. После внесения ремедиантов снижается содержание нефтяных углеводородов, вследствие чего, по данным Н.А. Киреевой и Е.И. Новоселовой, происходит стимуляция активности пероксидаз и полифенолоксидаз [16, 37].

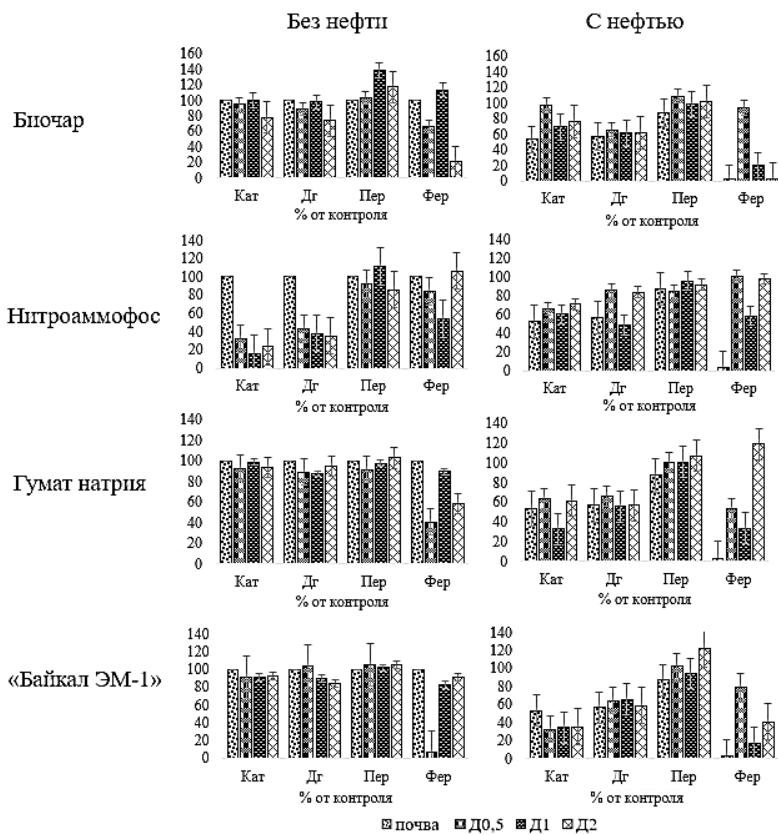


Рис. 1. Изменение активности оксидоредуктаз чернозема обыкновенного (без нефти и с нефтью) после ремедиации биочаром, нитроаммофосом, гуматом натрия и «Байкалом ЭМ-1», % от контроля: Кат – активность каталазы; Дг – активность дегидрогеназ; Пер – активность пероксидаз; Фер – активность ферриредуктаз

По данным Н.М. Исмаилова с соавт. (1984), почвенные дегидрогеназы чувствительны к нефтяному загрязнению и поэтому ингибируются в наибольшей степени не самими углеводородами, а продуктами их деградации, которые могут накапливаться в почве [38]. В связи с этим снижение концентрации продуктов распада углеводородов в почве после добавления ремедиантов служит источником стимуляции дегидрогеназной активности [5, 16].

Изменение активности гидролаз. Активность инвертазы при внесении биочара и «Байкала ЭМ-1» в концентрации $D_{0.5}$ в незагрязненную почву не отличалась от контроля (рис. 2). «Байкал ЭМ-1» в дозе D_1 стимулировал активность фермента на 35% выше, чем в контроле. Активность фосфатазы не отличалась от контроля после внесения биочара D_1 , D_2 и гумата натрия. Активность уреазы была простимулирована только при внесении доз гумата натрия $D_{0.5}$ и D_1 на 44 и 13% относительно контроля. При дозе гумата натрия D_2 наблюдали ингибирование активности фермента на 15% относительно контроля.

В нефтезагрязненной почве наблюдали ингибирование активности гидролаз. При внесении биочара $D_{0.5}$ активность фосфатазы и уреазы была простимулирована на 33% и до уровня контроля соответственно. Гумат натрия $D_{0.5}$ стимулировал активность уреазы до уровня контроля. Внесение нитроаммофоса в нефтезагрязненный чернозем стимулировало активность уреазы в 4,2, 3,5 и 2,0 раза выше при дозах $D_{0.5}$, D_1 и D_2 соответственно. Среди ферментов класса гидролаз в нефтезагрязненного чернозема наибольшее

ингибирование обнаружено активности инвертазы – на 30–80% ниже контроля. Относительно нефтезагрязнения активность инвертазы была простимулирована при внесении биочара и нитроаммофоса дозы D_2 , гумата натрия и «Байкала ЭМ-1» дозы $D_{0,5}$ на 40–69% относительно нефтезагрязнения.

Высокая чувствительность уреазы при оценке воздействия нефтезагрязненной почвы на биохимические свойства почвы была оценена в ряде исследований ранее [22, 39, 40]. Активность уреазы непосредственно связана с образованием аммиака и углекислого газа как следствие гидролиза мочевины. При загрязнении почв нефтью соотношение между углеродом и азотом смещается, и активность уреазы зависит от роста численности аммонифицирующих микроорганизмов [39, 41].

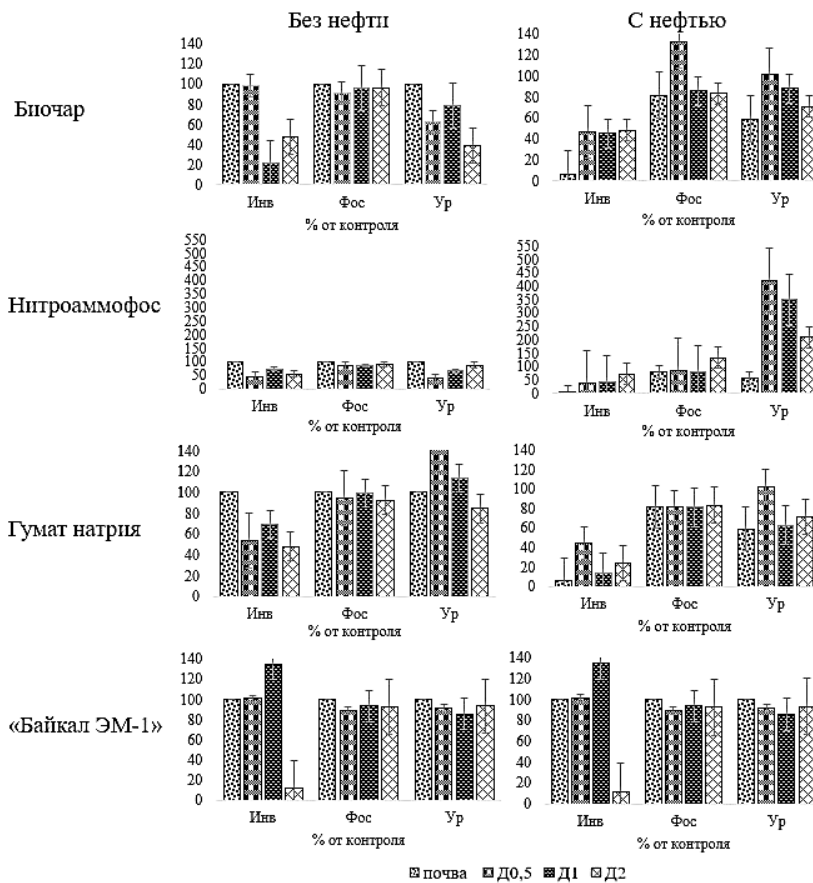


Рис. 2. Изменение активности гидролаз чернозема обыкновенного (без нефти и с нефтью) после ремедиации биочаром, нитроаммофосом, гуматом натрия и «Байкал ЭМ-1», % от контроля: Инв – активность инвертазы; Фос – активность фосфатазы; Ур – активность уреазы

По чувствительности ферментов-гидролаз при внесении ремедиантов был составлен ряд: уреазы > фосфатаза > инвертаза.

При добавлении биочара $D_{0,5}$ в нефтезагрязненную почву активность уреазы и фосфатазы значительно увеличилась относительно почвы с нефтью без ремедиантов. При внесении нитроаммофоса обнаружена ожидаемая стимуляция активности уреазы за счет привноса соединений азота и стимуляции азотфиксирующих и аммонифицирующих бактерий. Как изучено профессором И.М. Габбасовой, при всех уровнях загрязнения нефтью и при сочетании типов загрязнителей активность инвертазы

ингибируется [42]. При этом чем больше углерода нефтепродуктов и сухого остатка, тем ниже активность инвертазы [43].

Среди изученных ферментов чернозема после внесения ремедиантов по степени чувствительности к нефтяному загрязнению построен ряд (от наиболее чувствительно-го к наименее): *ферриредуктазы* > *пероксидазы* > *уреаза* > *фосфатаза* > *дегидрогеназы* > *инвертаза* > *каталаза*.

Таким образом, активность некоторых оксидоредуктаз и гидролаз (ферриредуктаз, пероксидаз, уреазы, дегидрогеназ) подвержена наибольшему ингибированию при нефтяном загрязнении и может служить основным диагностическим показателем состояния и восстановления почв.

Изменение индекса интегральной биологической активности чернозема. Интегральный показатель биологической активности чернозема (ИПБА) был рассчитан по значениям активности 7 ферментов для каждого варианта эксперимента. При внесении биоремедиантов в незагрязненную почву наблюдали снижение активности ферментов, выраженное через ИПБА на 13–40% (рис. 3). Наибольшее ингибирование активности ферментов обнаружено после внесения нитроаммофоса. Остальные ремедианты ингибировали активность менее значительно относительно контроля.

Установлено, что при загрязнении нефтью ферментативная активность почв снижается на 50% ниже контроля. При внесении в почву биочара ингибирование ИПБА было простимулировано на 44% относительно загрязнения, до уровня контроля. Внесение гумата натрия и «Байкала ЭМ-1» позволило простимулировать ИПБА на 23 и 13% от нефтезагрязнения. Внесение нитроаммофоса простимулировало активность ферментов в нефтезагрязненной почве на 26% выше контроля. Это обусловлено в большей степени повышенными значениями активности уреазы, чем долей вклада от активности других ферментов.

По степени восстановления ферментативной активности почв ремедианты располагают в следующем порядке, % от нефтезагрязнения: *нитроаммофос* > *биоچار* > *гумат натрия* > «*Байкал ЭМ-1*».

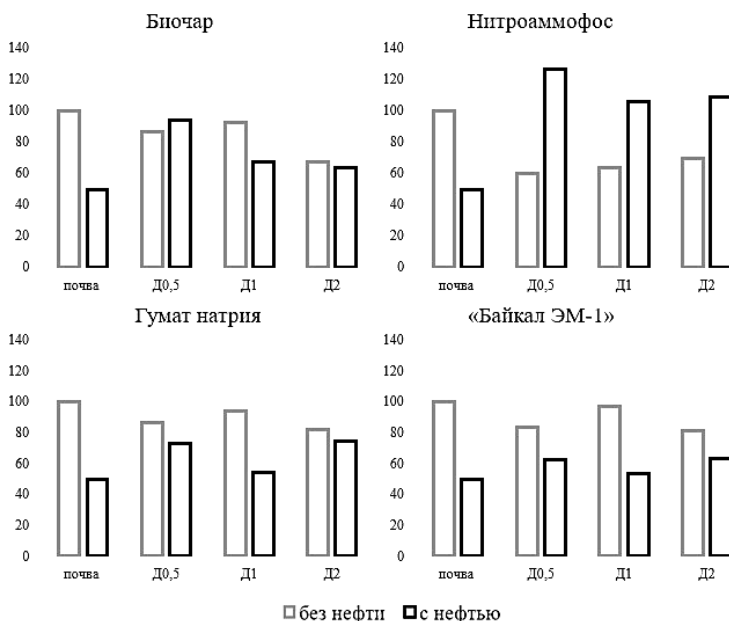


Рис. 3. Интегральный показатель биологической активности чернозема обыкновенного (без нефти и с нефтью) после ремедиации биочаром, нитроаммофосом, гуматом натрия и «Байкалом ЭМ-1», % от контроля

Наибольшую степень восстановления ферментативной активности почв обеспечивал нитроаммофос: в частности, стимуляция активности уреазы в 4 раза больше, чем активность остальных ферментов. При дозе $D_{0,5}$ нитроаммофоса и биочара установлена максимальная стимуляция ИПБА относительно контроля и нефтезагрязнения. Внесение нитроаммофоса стимулировало активность 3 из 7 ферментов, а внесение биочара – активность 5 из 7 ферментов относительно нефтезагрязнения.

Ранжирование ферментов по степени восстановления почвы после применения биочара представлено как *инвертаза* < *дегидрогеназы* < *ферриредуктазы* < *каталаза* < *уреаза* < *пероксидазы* < *фосфатаза*.

Применение биочара способствует восстановлению активности инвертазы, дегидрогеназ, ферриредуктаз и каталазы.

Таким образом, активность ферментов класса оксидоредуктаз более чувствительна, чем активность гидролаз, быстрее реагирует на внесение ремедиантов и изменение экологического состояния почвы.

Изменение среднего геометрического ферментативной активности (GMea). Среднее геометрическое рассчитывали для каждого класса ферментов: оксидоредуктаз и гидролаз (рис. 4). Установлено, что среднее геометрическое по активности оксидоредуктаз (GMea (OX)) на черноземе с биочаром $D_{0,5}$ было более эффективным, чем другие дозы. Для среднего геометрического по активности гидролаз (GMea (HD)) более эффективны дозы биочара $D_{0,5}$ и D_1 . Нитроаммофос при дозах $D_{0,5}$ и D_1 способствовал восстановлению активности оксидоредуктаз, а при дозе $D_{0,5}$ – восстановлению активности гидролаз. Такую же тенденцию восстановления активности оксидоредуктаз (GMea (OX)) наблюдали после внесения $D_{0,5}$ гумата натрия и «Байкала ЭМ-1». Для среднего геометрического активности гидролаз (GMea (HD)) после внесения $D_{0,5}$ гумата натрия и «Байкала ЭМ-1» установлено значение на уровне контроля.

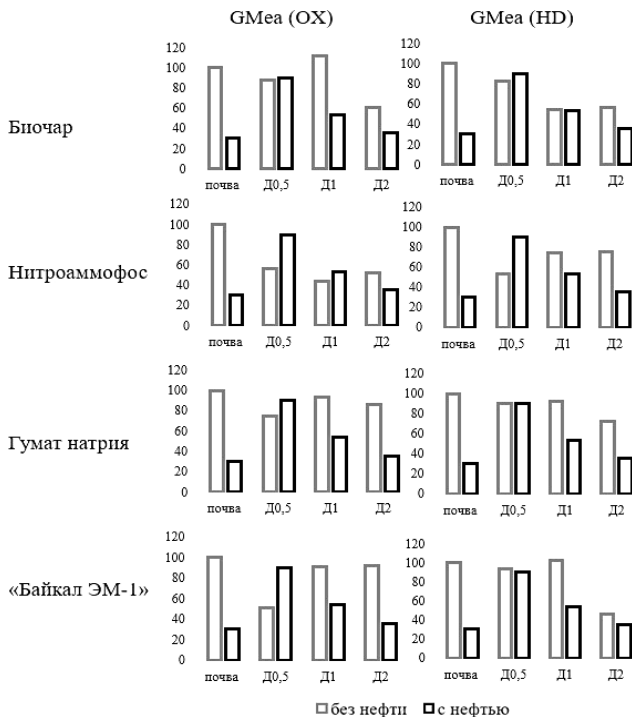


Рис. 4. Изменение среднего геометрического ферментативной активности чернозема обыкновенного (без нефти и с нефтью) после ремедиации биочаром, нитроаммофосом, гуматом натрия и «Байкалом ЭМ-1»

Таким образом, при ремедиации нефтезагрязненного чернозема наиболее стимулирующее воздействие на активность оксидоредуктаз и гидролаз почвы оказывает концентрация каждого ремедианта в концентрации $D_{0,5}$. При этом стимуляция активности оксидоредуктаз и гидролаз достигнута в D_1 , но с меньшей интенсивностью восстановления относительно контроля.

Выводы

Активность гидролаз и оксидоредуктаз подвержена наибольшему ингибированию при нефтяном загрязнении и может служить основным диагностическим показателем состояния и восстановления черноземных почв после применения ремедиантов. Среди показателей ферментативной активности наиболее чувствительными среди ферментов класса оксидоредуктаз являются ферриредуктазы и пероксидазы, среди ферментов класса гидролаз – уреаза и фосфатаза. Стимуляция активности оксидоредуктаз и гидролаз достигнута в D_1 , но с меньшей интенсивностью восстановления относительно контроля.

При ремедиации нефтезагрязненного чернозема стимулирующее воздействие на активность оксидоредуктаз и гидролаз почвы оказывает концентрация $D_{0,5}$ биочара и «Байкала ЭМ-1», а нитроаммофоса и гумата натрия – D_2 . Значения средних геометрических ферментативной активности (GMea) оксидоредуктаз и гидролаз были простимулированы относительно контроля при дозе $D_{0,5}$ каждого ремедианта. Полученные в исследованиях результаты позволяют использовать показатели активности почвенных ферментов как информативный диагностический показатель восстановления экологического состояния нефтезагрязненных черноземных почв после ремедиации.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации (МК-175.2022.5), проекта Министерства науки и высшего образования РФ по поддержке молодежной лаборатории «Агробиотехнологии для повышения плодородия почв и качества сельскохозяйственной продукции» в рамках программы развития межрегионального научно-образовательного центра Юга России (ЛабНОЦ-21-01АБ) и при поддержке Программы стратегического академического лидерства Южного федерального университета («Приоритет 2030») (№ СП-12-22-10).

Библиографический список

1. Ahmad A.A., Muhammad I., Shah T., Kalwar Q., Zhang J., Liang Z., Du M., Juanshan Z., Yan P., Ding X., Rui-Jun L. Remediation Methods of Crude Oil Contaminated Soil // World Journal of Agriculture and Soil Science. – 2020. <https://doi.org/10.33552/WJASS.2020.04.000595>
2. Mambwe M., Kalebaila K.K., Johnson T. Remediation technologies for oil contaminated soil // Global J. Environ. Sci. Manage. – 2021. – Vol. 7 (3). – Pp. 419–438.
3. Бабаев М.П., Исмаилов Н.М., Наджафова С.И., Кейсерухская Ф.Ш., Оруджева Н.И. К вопросу о разработке ПДК нефти и нефтепродуктов в различных типах почв на основе их ассимиляционного потенциала (на примере почв Азербайджана) // Почвоведение. – 2020. – № 11. – С. 1393–1400. <https://doi.org/10.31857/S0032180X20110040>
4. Гасьмова А.С., Исмаилов Н.М., Панахова А.А. Биоадсорбенты и биологически активные соединения в биотехнологиях реабилитации нефтезагрязненных почв и водоемов Апшеронского полуострова // Аграрный научный журнал. – 2018. – № 1. – С. 6–9.
5. Исмаилов Н.М., Гасьмова А.С. Самоочищающая способность почв от нефти и нефтепродуктов в зависимости от структуры углеводов // Аридные экосистемы. – 2016. – 22. – № 4 (69). – С. 73–80.

6. *Wyszowska J., Wyszowski M.* Activity of soil dehydrogenases, urease and acid and alkaline phosphatases in soil polluted with petroleum // *J. Toxicol. Environ. Health.* – 2010. – Vol. 73. – Pp. 1202–1204.

7. *Поляк Ю.М., Сухаревич В.И.* Почвенные ферменты и загрязнение почв: биодеградация, биоремедиация, биоиндикация // *Агрохимия.* – 2020. – № 3. – С. 83–93. <https://doi.org/10.31857/S0002188120010123>

8. *Bakina L.G., Polyak Y.M., Gerasimov A.O., Mayachkina N.V., Chugunova M.V., Khomyakov Y.V., Vertebny V.A.* Mutual effects of crude oil and plants in contaminated soil: a field study // *Environ Geochem Health.* – 2022. – № 44. – P. 69–82. <https://doi.org/10.1007/s10653-021-00973-4>

9. *Feyzia H., Choroma M., Bagherib G.* Urease activity and microbial biomass of carbon in hydrocarbon contaminated soils. A case study of cheshmeh-khosh oil field, Iran // *Ecotoxicology and Environmental Safety.* – 2020. – Vol. 199:110664. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110664>

10. *Kobierski M., Lemanowicz J., Wojewódzki P., Kondratowicz-Maciejewska K.* The Effect of Organic and Conventional Farming Systems with Different Tillage on Soil Properties and Enzymatic Activity // *Agronomy.* – 2020. – № 10:1809. <https://doi.org/10.3390/agronomy10111809>

11. *Kulikova O., Mazlova E., Terekhova V., Karnaeva A., Malina N., Smirnova T.* Surfactant-enhanced treatment of oil-contaminated Arctic tundra soil: Ecotoxicological assessment // *Environmental Technology & Innovation.* – 2021. – Vol. 23:101570. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101570>

12. *Polyak Y., Bakina L., Polyak M., Mayachkina N.V., Gerasimova A.O., Bureb V.M.* The possible role of toxigenic fungi in ecotoxicity of two contrasting oil-contaminated soils – A field study // *International Biodeterioration & Biodegradation.* – 2018. – № 126. – Pp. 57–68. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.10.004>

13. *Mokrikov G., Minnikova T., Kazeev K., Kolesnikov S.* Use of soil enzyme activity in assessing the effect of no-till in the south of Russia // *Agronomy Research.* – 2021. – Vol. 19. – № 1. – Pp. 171–184. <https://doi.org/10.15159/AR.20.240>

14. *Минникова Т.В., Мокриков Г.В., Казеев К.Ш., Акименко Ю.В., Колесников С.И.* Оценка ферментативной активности черноземов Ростовской области под бинарными посевами подсолнечника // *Известия ТСХА.* – 2017. – № 6. – С. 141–155. <https://doi.org/10.26897/0021-342X-2017-6-141-155>

15. *Dick R.P.* Soil Enzyme Activities as Indicators of Soil Quality // *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment.* – 2015. – Pp. 107–124. <https://doi.org/10.2136/sssaspecpub35>

16. *Новосёлова Е.И., Куреева Н.А.* Ферментативная активность почв в условиях нефтяного загрязнения и ее биодиагностическое значение // *Теоретическая и прикладная экология.* – 2009. – № 2. – С. 4–12.

17. *Минникова Т.В., Колесников С.И., Денисова Т.В.* Влияние азотных и гуминовых удобрений на биохимическое состояние нефтезагрязненного чернозема // *Юг России: экология, развитие.* – 2019. – Vol. 14 (2). – С. 189–201. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2019-2-189-201>

18. *Руденко Е.Ю.* Влияние отходов пивоварения на ферментативную активность нефтезагрязненной черноземной почвы // *Теоретическая и прикладная экология.* – 2011. – № 3. – С. 60–64.

19. *Хазиев Ф.Х.* Системно-экологический анализ ферментативной активности почв. – М.: Наука, 1982. – 204 с.

20. *Хазиев Ф.Х.* Экологические связи ферментативной активности почв // *Экобиотех.* – 2018. – Т. 1, № 2. – С. 80–92.

21. *Kolesnikov S.I., Kazeev K.Sh., Akimenko Yu.V.* Development of regional standards for pollutants in the soil using biological parameters // *Environmental Monitoring and Assessment.* – 2019. – № 191. – P. 544–550. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7718-3>

22. Minnikova T., Kolesnikov S., Minkina T., Mandzhieva S. Assessment of Ecological Condition of Haplic Chernozem Calcic Contaminated with Petroleum Hydrocarbons during Application of Bioremediation Agents of Various Natures // *Land*. – 2021. – № 10. – С. 169. <https://doi.org/10.3390/land10020169>
23. Киреева Н.А., Водопьянов В.В., Мифтахова А.М. Биологическая активность нефтезагрязненных почв. – Уфа: Гилем, 2016. – 376 с.
24. Рафикова Г.Ф., Кузина Е.В., Коршунова Т.Ю. Влияние биоремедиации на биологическую активность чернозема выщелоченного, загрязненного нефтью и свинцом // *Почвоведение*. – 2022. – № 3. – С. 354–369. <https://doi.org/10.31857/S0032180X22030121>
25. Зайнуллин Р.Р. Система «Микроорганизмы почвы – растения – животные» как междисциплинарный объект управления // *Известия ТСХА*. – 2020. – № 2. – С. 20–39. <https://doi.org/10.26897/0021-342X-2020-2-20-39>
26. Rao M.A., Scelza R., Acevedo F., Diez M.C., Gianfreda L. Enzymes as useful tools for environmental purposes // *Chemosphere*. – 2014. – № 107. – Pp. 145–162.
27. Tabatabai M.A., Dick W.A. Enzymes in soil: research and developments in measuring activities // *Enzymes in the environment: Activity, ecology, and applications*. – N.Y.: Marcel Dekker, 2002. – Pp. 567–596.
28. Thavamani P., Malik S., Beer M., Megharaj M., Naidu R. Microbial activity and diversity in long-term mixed contaminated soils with respect to polyaromatic hydrocarbons and heavy metals // *J. Environ. Manag.* – 2012. – Vol. 99. – Pp. 10–17.
29. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. – М.: Наука, 2005. – 252 с.
30. Казеев К.Ш., Колесников С.И., Акименко Ю.В., Даденко Е.В. Методы биодиагностики наземных экосистем. – Ростов-на-Дону: Изд-во Южного федерального университета, 2016. – 356 с.
31. Garcia-Ruiz R., Ochoa V., Hinojosa M.B., Carreira J.A. Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems // *Soil Biol. Biochem.* – 2008. – Vol. 40. – Pp. 2137–2145. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2008.03.023>
32. Gao Y., Wang J., Xu J., Kong X., Zhao L., Zeng D.H. Assessing the quality of oil contaminated saline soil using two composite indices // *Ecol. Indic.* – 2013. – Vol. 24. – Pp. 105–112.
33. Галулин Р.В., Пинский Д.Л. Действие свинца на дегидрогеназную активность сероземно-луговой почвы // *Агрoхимия*. – 1988. – № 6. – С. 93–99.
34. Добровольский Г.В., Никитин Е.Д. *Экология почв*. – М.: МГУ, 2006. – 362 с.
35. Киреева Н.А., Новосёлова Е.И., Онегова Т.С. Активность каталазы и дегидрогеназы в почвах, загрязненных нефтью и нефтепродуктами // *Агрoхимия*. – 2002. – № 8. – С. 64–72.
36. Хусайнова К.Н. Гигиеническая оценка влияния нефтепродуктов на окружающую среду // *Вестник Казахского национального медицинского университета*. – 2016. – № 1. – С. 449–450.
37. Киреева Н.А., Новосёлова Е.И., Ямалетдинова Г.Ф. Активность оксидоредуктаз в нефтезагрязненных и рекультивируемых почвах // *Агрoхимия*. – 2001. – № 4. – С. 53–60.
38. Исмаилов Н.М., Гаджиев В.И., Гасанов М.Г. Коэффициент минерализации углеводов как показатель самоочищающей способности нефтезагрязненных почв и эффективности применяемых методов их рекультивации // *Известия Азербайджанской ССР. – Серия «Биологические науки»*. – 1984. – 6. – С. 76–85.
39. Исмаилов Н.М. Микробиология и ферментативная активность нефтезагрязненных почв // *Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем*. – М.: Наука, 1988. – С. 42–57.
40. Киреева Н.А., Водопьянов В.В., Мифтахова А.М. Биологическая активность нефтезагрязненных почв. – Уфа: Гилем, 2001. – 376 с.

41. Терещенко Н.Н., Лушников С.В., Митрофанова Н.А., Пилипенко С.В. Особенности биологической рекультивации нефтезагрязненных и техногенно-засоленных почв // Экология и промышленность России. – 2005. – 6. – С. 33–36.

42. Габбасова И.М. Деградация и рекультивация почв Южного Приуралья: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Москва, 2001. – 45 с.

43. Хабиров И.К., Габбасова И.М., Хазиев Ф.Х. Устойчивость почвенных процессов. – Уфа: БГАУ, 2001. – 340 с.

EVALUATION OF THE ENZYMATIC ACTIVITY OF HAPLIC CHERNOZEM CONTAMINATED BY PETROLEUM HYDROCARBONS AFTER BIOREMEDIATION

T.V. MINNIKOVA, A.S. RUSEVA, S.I. KOLESNIKOV

(Southern Federal University)

Introduction. The evaluation of the ecological state of soils in terms of enzymatic activity during the remediation of petroleum hydrocarbons contamination is very informative. The activity of enzymes of the oxidoreductases and hydrolases classes in chernozem is most sensitive to contamination by heavy metals, pesticides, and other types of anthropogenic impact. The informativeness and sensitivity of enzymes during the remediation of petroleum hydrocarbons-contaminated soils have not been adequately studied. Materials and methods. The activity of seven enzymes of oxidoreductases and hydrolases classes of petroleum hydrocarbons-contaminated soils after the application of biochar, sodium humate, nitroammophos and Baikal EM-1 was studied. In 90 days from the moment the ameliorants were introduced into the soil, the enzymatic activity of soils was evaluated by changes in the activity of catalase, dehydrogenases, peroxidases, ferrireductases, invertase, urease, and phosphatases. The integral indicator of soil biological activity (IIBA) and the geometric mean enzymatic activity of soils were evaluated for the classes of oxidoreductases (GMea (OX)) and hydrolases (GMea (HD)). Results. During the remediation of petroleum hydrocarbons-contaminated chernozem, the concentration of $D_{0.5}$ of biochar and Baikal EM-1 has a stimulating effect on the activity of oxidoreductases and hydrolases of the soil, and D_2 of nitroammophos and sodium humate – D_2 . At a dose of $D_{0.5}$ of nitroammophos and biochar, the maximum stimulation of IIBA was established relative to control and petroleum hydrocarbons contamination. The introduction of nitroammophos stimulated the activity of three out of seven enzymes, and biochar stimulated the activity of five out of seven enzymes regarding petroleum hydrocarbons contamination. The highest efficiency of nitroammophos is largely due to excessive stimulation of the urease activity of ordinary chernozem. The values of the geometric mean enzymatic activity (GMea) of oxidoreductases and hydrolases were stimulated relative to the control at a dose of $D_{0.5}$ of each ameliorant. The sensitivity series of petroleum hydrocarbons-contaminated chernozem enzymes after the introduction of ameliorants from the most sensitive to the least sensitive is the following: ferrireductases > peroxidases > urease > phosphatase > dehydrogenases > invertase > catalase. According to the degree of restoration of the enzymatic activity of soils, the ameliorants can be arranged in the following order (in % of petroleum hydrocarbons contamination): nitroammophos > biochar > sodium humate > Baikal EM-1. Conclusion. During the remediation of petroleum hydrocarbons-contaminated chernozem, the most stimulating effect on the activity of oxidoreductases and soil hydrolases is exerted by the ameliorant at a concentration of $D_{0.5}$. For biodiagnostics of the ecological state of petroleum hydrocarbons-contaminated black soils, we recommend using the activity of ferrireductases, peroxidases, urease, and phosphatase.

Key words: contamination, black soil, biochar, sodium humate, nitroammophos, Baikal EM-1, oxidoreductases, hydrolases, integral indicator of biological activity, geometric mean of enzymatic activity, biodiagnostics, soil stability.

References

1. Ahmad A.A., Muhammad I., Shah T., Kalwar Q., Zhang J., Liang Z., Du M., Juanshan Z., Yan P., Ding X., Rui-Jun L. Remediation Methods of Crude Oil Contaminated Soil. *World Journal of Agriculture and Soil Science*. 2020. URL: <https://doi.org/10.33552/WJASS.2020.04.000595>
2. Mambwe M., Kalebaila K.K., Johnson T. Remediation technologies for oil contaminated soil. *Global J. Environ. Sci. Manage.* 2021; 7 (3): 419–438.
3. Babaev M.P., Ismailov N.M., Nadzhafova S.I., Keyserukhskaya F.Sh., Orudzheva N.I. K voprosu o razrabotke PDK nefti i nefteproduktov v razlichnykh tipakh pochv na osnove ikh assimilatsionnogo potentsiala (na primere pochv Azerbaydzhana) [On the issue of developing MPCs for oil and oil products in various types of soils based on their assimilation potential (on the example of Azerbaijan soils)]. *Pochvovedenie*. 2020; 11: 1393–1400. <https://doi.org/10.31857/S0032180X20110040> (In Rus.)
4. Gasyмова A.S., Ismailov N.M., Panakhova A.A. Bioadsorbenty i biologicheski aktivnye soedineniya v bioteknologiyakh reabilitatsii neftezagryaznennykh pochv i vodoe-mov Apsheronского poluostrova [Bioadsorbents and biologically active compounds in biotechnologies for the rehabilitation of oil-contaminated soils and reservoirs of the Apsheron Peninsula]. *Agrarniy nauchny zhurnal*. 2018; 1: 6–9. (In Rus.)
5. Ismailov N.M., Gasyмова A.S. Samoochishchayushchaya sposobnost' pochv ot nefti i nefteproduktov v zavisimosti ot struktury uglevodorodov [Self-cleaning ability of soils from oil and oil products depending on the structure of hydrocarbons]. *Aridnyye ekosistemy*. 2016; 22; 4 (69): 73–80. (In Rus.)
6. Wyszowska J., Wyszowski M. Activity of soil dehydrogenases, urease, and acid and alkaline phosphatases in soil polluted with petroleum. *J. Toxicol. Environ. Health*. 2010; 73: 1202–1204.
7. Poljak Yu.M., Sukharevich V.I. Pochvennye fermenty i zagryaznenie pochv: biodegradatsiya, bioremediatsiya, bioindikatsiya [Soil enzymes and soil pollution: biodegradation, bioremediation, bioindication]. *Agrokimiya*. 2020; 3: 83–93. <https://doi.org/10.31857/S0002188120010123> (In Rus.)
8. Bakina L.G., Polyak Y.M., Gerasimov A.O., Mayachkina N.V., Chugunova M.V., Khomyakov Y.V., Vertebny V.A. Mutual effects of crude oil and plants in contaminated soil: a field study. *Environ Geochem Health*. 2022; 44: 69–82. <https://doi.org/10.1007/s10653-021-00973-4>
9. Feyzia H., Choroma M., Bagheribc G. Urease activity and microbial biomass of carbon in hydrocarbon contaminated soils. A case study of cheshmeh-khosh oil field, Iran. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2020; 199: 110664 <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110664>
10. Kobierski M., Lemanowicz J., Wojewódzki P., Kondratowicz-Maciejewska K. The Effect of Organic and Conventional Farming Systems with Different Tillage on Soil Properties and Enzymatic Activity. *Agronomy*. 2020; 10: 1809. <https://doi.org/10.3390/agronomy10111809>
11. Kulikova O., Mazlova E., Terekhova V., Karinaeva A., Malina N., Smirnova T. Surfactant-enhanced treatment of oil-contaminated Arctic tundra soil: Ecotoxicological assessment. *Environmental Technology & Innovation*. 2021; 23: 101570 <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101570>
12. Polyak Y., Bakina L., Polyak M., Mayachkina N.V., Gerasimova A.O., Bureb V.M. The possible role of toxigenic fungi in ecotoxicity of two contrasting oil-contaminated soils – A field study. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2018; 126: 57–68. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.10.004>
13. Mokrikov G., Minnikova T., Kazeev K., Kolesnikov S. Use of soil enzyme activity in assessing the effect of no-till in the south of Russia. *Agronomy Research*. 2021; 19 (1): 171–184. <https://doi.org/10.15159/AR.20.240>

14. *Minnikova T.V., Mokrikov G.V., Kazeev K.Sh., Akimenko Yu.V., Kolesnikov S.I.* Otsenka fermentativnoy aktivnosti chernozemov Rostovskoy oblasti pod binarnymi posevami podsolnechnika [Evaluation of the enzymatic activity of the chernozems of the Rostov region under binary crops of sunflower]. *Izvestiya Timiryazevskoy sel'skokhozyaystvennoy akademii*. 2017; 6: 141–155. <https://doi.org/10.26897/0021-342X-2017-6-141-155> (In Rus.)
15. *Dick R.P.* Soil Enzyme Activities as Indicators of Soil Quality. *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. 2015: 107–124. <https://doi.org/10.2136/sssaspeccpub35.c7>
16. *Novoselova E.I., Kireeva N.A.* Fermentativnaya aktivnost' pochv v usloviyakh neftyanogo zagryazneniya i ee biodiagnosticheskoe znachenie [Enzymatic activity of soils under conditions of oil pollution and its biodiagnostic significance]. *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2009; 2: 4–12. (In Rus.)
17. *Minnikova T.V., Kolesnikov S.I., Denisova T.V.* Vliyanie azotnykh i guminovykh udobreniy na biokhimicheskoe sostoyanie neftezagryaznennogo chernozema [Effect of nitrogen and humic fertilizers on the biochemical state of oil-contaminated chernozem]. *Yug Rossii: ekologiya, razvitie*. 2019; 14 (2): 189–201. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2019-2-189-201> (In Rus.)
18. *Rudenko E.Yu.* Vliyanie otkhodov pivovareniya na fermentativnuyu aktivnost' neftezagryaznennoy chernozomnoy pochvy [Effect of brewing waste on the enzymatic activity of oil-contaminated chernozem soil]. *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2011; 3: 60–64. (In Rus.)
19. *Khaziev F.Kh.* Sistemno-ekologicheskij analiz fermentativnoy aktivnosti pochv [System-ecological analysis of the enzymatic activity of soils]. M.: Nauka, 1982: 204. (In Rus.)
20. *Khaziev F.Kh.* Ekologicheskie svyazi fermentativnoy aktivnosti pochv [Ecological connections of soil enzymatic activity]. *Ekobiotekh*. 2018; 1 (2): 80–92. (In Rus.)
21. *Kolesnikov S.I., Kazeev K.Sh., Akimenko Yu.V.* Development of regional standards for pollutants in the soil using biological parameters. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2019; 191: 544–550. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7718-3>
22. *Minnikova T., Kolesnikov S., Minkina, T., Mandzhiyeva, S.* Assessment of Ecological Condition of Haplic Chernozem Calcic Contaminated with Petroleum Hydrocarbons during Application of Bioremediation Agents of Various Natures. *Land*. 2021; 10: 169. <https://doi.org/10.3390/land10020169>
23. *Kireeva H.A., Vodop'yanov V.V., Miftakhova A.M.* Biologicheskaya aktivnost' neftezagryaznennykh pochv [Biological activity of oil-contaminated soils]. Ufa: Gilem, 2016: 376. (In Rus.)
24. *Rafikova G.F., Kuzina E.V., Korshunova T.Yu.* Vliyanie bioremediatsii na biologicheskuyu aktivnost' chernozema vyshchelochennogo, zagryaznennogo nef'tyu i svintsom [Effect of bioremediation on the biological activity of leached chernozem contaminated with oil and lead]. *Pochvovedenie*. 2022; 3: 354–369. <https://doi.org/10.31857/S0032180X22030121> (In Rus.)
25. *Zaynullin R.R.* Sistema “mikroorganizmy pochvy – rasteniya – zhivotnye” kak mezhdistsiplinarniy ob’ekt upravleniya [The system “soil microorganisms – plants – animals” as an interdisciplinary object of management]. *Izvestiya Timiryazevskoy sel'skokhozyaystvennoy akademii*. 2020; 2: 20–39. <https://doi.org/10.26897/0021-342X-2020-2-20-39> (In Rus.)
26. *Rao M.A., Scelza R., Acevedo F., Diez M.C., Gianfreda L.* Enzymes as useful tools for environmental purposes. *Chemosphere*. 2014; 107: 145–162.
27. *Tabatabai M.A., Dick W.A.* Enzymes in soil: research and developments in measuring activities. *Enzymes in the environment: Activity, ecology, and applications*. N.Y.: Marcel Dekker. 2002: 567–596.

28. *Thavamani P., Malik S., Beer M., Megharaj M., Naidu R.* Microbial activity and diversity in long-term mixed contaminated soils with respect to polyaromatic hydrocarbons and heavy metals. *J. Environ. Manag.* 2012; 99: 10–17.
29. *Kaziev F.Kh.* Metody pochvennoy enzimologii [Methods of soil enzymology]. M.: Nauka, 2005: 252. (In Rus.)
30. *Kazeev K.Sh., Kolesnikov S.I., Akimenko Yu.V., Dadenko E.V.* Metody biodiagnostiki nazemnykh ekosistem [Methods for biodiagnostics of terrestrial ecosystems]. Rostov-na-Donu: Izd-vo Yuzhnogo federal'nogo universiteta, 2016: 356. (In Rus.)
31. *Garcia-Ruiz R., Ochoa V., Hinojosa M.B., Carreira J.A.* Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems. *Soil Biol. Biochem.* 2008; 40: 2137–2145. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2008.03.023>
32. *Gao Y., Wang J., Xu J., Kong X., Zhao L., Zeng D.H.* Assessing the quality of oil contaminated saline soil using two composite indices. *Ecol. Indic.* 2013; 24: 105–112.
33. *Galiulin R.V., Pinskiy D.L.* Deystvie svitsca na degidrogenaznuyu aktivnost' sezozemno-lugovoy pochvy [The effect of lead on the dehydrogenase activity of gray-meadow soil]. *Agrokhimiya.* 1988; 6: 93–99. (In Rus.)
34. *Dobrovolskiy G.V., Nikitin E.D.* Ekologiya pochv [Soil ecology]. M.: MGU, 2006: 362. (In Rus.)
35. *Kireeva N.A., Novoselova E.I., Onegova T.S.* Aktivnost' katalazy i degidrogenazy v pochvakh, zagryaznennykh nef'tyu i nefteproduktami [Activity of catalase and dehydrogenase in soils polluted with oil and oil products]. *Agrokhimiya.* 2002; 8: 64–72. (In Rus.)
36. *Khusaynova K.N.* Gigienicheskaya otsenka vliyaniya nefteproduktov na okruzhayushchuyu sredu [Hygienic evaluation of the impact of petroleum products on the environment]. *Vestnik Kazakhskogo Natsional'nogo meditsinskogo universiteta.* 2016; 1: 449–450. (In Rus.)
37. *Kireeva N.A., Novosrlova E.I., Yamaletdinova G.F.* Aktivnost' oksidoreduktaz v neftezagryaznennykh i rekul'tiviruemykh pochvakh [Activity of oxidoreductases in oil-contaminated and reclaimed soils]. *Agrokhimiya.* 2001; 4: 53–60. (In Rus.)
38. *Ismailov N.M., Gadzhiev V.I., Gasanov M.G.* Koeffitsient mineralizatsii uglevodorodov kak pokazatel' samoochishchayushchey sposobnosti neftezagryaznennykh pochv i effektivnosti primenyaemykh metodov ikh rekul'tivatsii [Mineralization coefficient of hydrocarbons as an indicator of the self-cleaning ability of oil-contaminated soils and the effectiveness of the methods used for their reclamation]. *Izvestiya Azerbaydzhan-skoy SSR Ser. biol. nauki.* 1984; 6: 76–85. (In Rus.)
39. *Ismailov N.M.* Mikrobiologiya i fermentativnaya aktivnost' neftezagryaznennykh pochv [Microbiology and enzymatic activity of oil-contaminated soils]. *Vosstanovlenie neftezagryaznennykh pochvennykh ekosistem.* M.: Nauka. 1988: 42–57. (In Rus.)
40. *Kireeva N.A., Vodop'yanov V.V., Miftakhova A.M.* Biologicheskaya aktivnost' neftezagryaznennykh pochv [Biological activity of oil-contaminated soils]. Ufa: Gilem, 2001: 376. (In Rus.)
41. *Tereshchenko N.N., Lushnikov S.V., Mitrofanova N.A., Pilipenko S.V.* Osobennosti biologicheskoy rekul'tivatsii neftezagryaznennykh i tekhnogenno-zasolennykh pochv [Peculiarities of biological reclamation of oil-contaminated and technogenically saline soils]. *Ekologiya i promyshlennost' Rossii.* 2005; 6: 33–36. (In Rus.)
42. *Gabbasova I.M.* Degradatsiya i rekul'tivatsiya pochv Yuzhnogo Priural'ya. Avtoref. dis. ... dokt. biol. nauk. [Degradation and reclamation of soils in the Southern Urals. DSc (Bio) thesis]. Moscow, 2001: 45. (In Rus.)
43. *Khabirov I.K., Gabbasova I.M., Khaziev F.H.* Ustoychivost' pochvennykh protsessov [Stability of soil processes]. Ufa: BGAU, 2001: 340. (In Rus.)

Минникова Татьяна Владимировна, ведущий научный сотрудник, канд. биол. наук, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, Южный федеральный университет (344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр-кт Стачки, 194/1; e-mail: loko261008@yandex.ru; тел.: (988) 539-01-34)

Русева Анна Степановна, аспирант кафедры экологии и природопользования, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, Южный федеральный университет (344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр-кт Стачки, 194/1; e-mail: ruseva.ann@yandex.ru; тел.: (951) 490-34-74)

Колесников Сергей Ильич, заведующий кафедрой экологии и природопользования, д-р с.-х. наук, профессор, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, Южный федеральный университет (344090, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пр-кт Стачки, 194/1; e-mail: kolesnikov@sfedu.ru; тел.: (918) 555-09-04)

Tat'yana V. Minnikova, Leading Research Associate, Ph.D., the Academy of Biology and Biotechnology named after D.I. Ivanovsky of Southern Federal University (194/1 Stachki Ave., Russia, Rostov-on-Don (344090, Russian Federation; phone: (988) 539-01-34; E-mail: loko261008@yandex.ru)

Anna S. Ruseva, post-graduate student, the Department of Ecology and Nature Management, the Academy of Biology and Biotechnology named after D.I. Ivanovsky of Southern Federal University (194/1 Stachki Ave., Russia, Rostov-on-Don (344090, Russian Federation; phone: (951) 490-34-74; E-mail: ruseva.ann@yandex.ru)

Sergey I. Kolesnikov, DSc (Ag), Professor, Head of the Department of Ecology and Nature Management, the Academy of Biology and Biotechnology named after D.I. Ivanovsky of Southern Federal University (194/1 Stachki Ave., Russia, Rostov-on-Don (344090, Russian Federation; phone: (918) 555-09-04; E-mail: kolesnikov@sfedu.ru)