

# ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ ДЕГИДРОГЕНАЗ И ИНВЕРТАЗЫ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОГО ЧЕРНОЗЕМА ПРИ ВНЕСЕНИИ БИОЧАРА И БАКТЕРИАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА

Т.В. Минникова<sup>1\*</sup>, С.И. Колесников<sup>1</sup>, Н.С. Минин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, Россия

\* Эл. почта: Loko261008@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 16.10.2023; принята к печати 25.01.2024

Исследованы изменения активности дегидрогеназ и инвертазы нефтезагрязненного чернозема обыкновенного при внесении биочара и бактериального препарата, содержащего штаммы *Bacillus* и *Paenibacillus*, как по отдельности, так и в сочетании, а также при инокуляции биочара бактериальным препаратом. Ремедианты были однократно внесены в почву, загрязненную нефтью (5% массы почвы), и перемешаны с ней. Процесс ремедиации длился 30 суток. Установлено, что наиболее эффективным является совместное применение биочара и бактериального препарата, которое стимулирует активность инвертазы и дегидрогеназ на 25 и 65% и снижает остаточное содержание нефти в почве. Результаты исследования возможно использовать при оценке экологического состояния нефтезагрязненных черноземов, а также для организации и проведения природоохранных мероприятий по ремедиации почв.

**Ключевые слова:** почва, нефть, ремедиация, ферментативная активность.

## EVALUATION OF DEHYDROGENASES AND INVERTASE ACTIVITY IN PETROLEUM-HYDROCARBON-CONTAMINATED HAPLIC CHERNOZEM DURING REMEDIATION WITH BIOCHAR AND BACTERIAL PREPARATION

T.V. Minnikova<sup>1</sup>, S.I. Kolesnikov<sup>1</sup>, N.S. Minin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Southern Federal University, Rostov-on-Don, 344090, Russia

Email: loko261008@yandex.ru

Changes in the activities of dehydrogenases and invertase in oil-contaminated ordinary chernozem were studied upon introducing biochar and a bacterial preparation containing *Bacillus* and *Paenibacillus* strains, both individually and in combination, as well as upon inoculating biochar with the bacterial preparation. The ameliorants were applied to oil-contaminated soil (5% of soil mass) and mixed with it. The remediation process lasted for 30 days. The most effective was the combined use of biochar and the bacterial preparation, which stimulated the activities of invertase and dehydrogenases by 25 and 65% and reduces the residual oil content in the soil. The results of the study may be useful for assessing the conditions oil-contaminated chernozems and for organizing and carrying out environmental protection measures for soil remediation.

**Keywords:** soil, oil, remediation, enzymatic activity.

### Введение

Восстановление экологического состояния нефтезагрязненных почв является сейчас приоритетной задачей. После внесения ремедиантов необходимо оценивать не только разложение нефти в почве, но и экологическое состояние, здоровье и уровень плодородия почвы [24, 26]. В настоящее время существует множество восстановительных технологий для работы с почвами, загрязненными нефтяными углеводородами, включая экстракцию, сжигание и термическую десорбцию, химическое окисление, электрокинетическую реабилитацию и другие подходы [23, 30].

Поскольку при загрязнении нефтью в почве происходит нарушение равновесия между углеродом и азотом за счет привноса углерода нефти, то необходимо оценивать состояние почвы прежде всего по биологическим показателям, характеризующим углеродный цикл (С-цикл) [2, 3]. К числу наиболее информативных показателей, характеризующих С-цикл, относятся активности инвертазы ( $\beta$ -фруктофуранозидазы) и дегидрогеназ. Снижение активности инвертазы почв при нефтяном загрязнении некоторые исследователи связывают с ингибированием активности целлюлозо-разлагающих микроорганизмов и со снижением содер-

жания дисахаридов в почве [1, 10, 11, 14, 15, 20, 22]. Для нормализации соотношения C:N в нефтезагрязненной почве необходимо применение технологий биоаугментации и биостимуляции аборигенной биоты [9, 27, 28]. При диагностике экологического состояния нефтезагрязненных черноземов концентрациями 5 и 10% массы почвы после внесения азотных и гуминовых ремедиантов активность инвертазы была информативным и чувствительным показателем [10]. Сравнением активностей инвертазы и дегидрогеназ с активностями других гидролаз и оксидоредуктаз установлено сходство их чувствительности при ремедиации нефтезагрязненного чернозема [11]. Активность инвертазы в орошаемых лугово-такырных почвах окрестностей Кумкурганской нефтебазы и Южно-Миршодского нефтяного месторождения в Сурхандарьинской области (Казахстан), непосредственно связана с расстоянием от нефтебазы: почва из зоны, прилегающей к источнику, имеет более низкую активность фермента, чем почва на более удаленном расстоянии [7].

В настоящее время при мелиорации загрязненных почв широко распространено применение биочара, или пироугля [5, 16, 28]. Поскольку применение только биочара связано с его свойствами как адсорбента и биостимулятора, важно обеспечить загрязненную почву еще и нефтедеструктивной биотой, которая будет простимулирована за счет углерода нефти и биочара.

Цель настоящего исследования – оценить активность дегидрогеназ и инвертазы чернозема при внесении биочара и бактериального препарата. Задачи: оценка изменения активностей инвертазы и дегидрогеназ чернозема 1) при внесении биочара и бактериального препарата по отдельности; 2) при совместном внесении; 3) при инокуляции биочара бактериальным препаратом.

### Объекты и методы

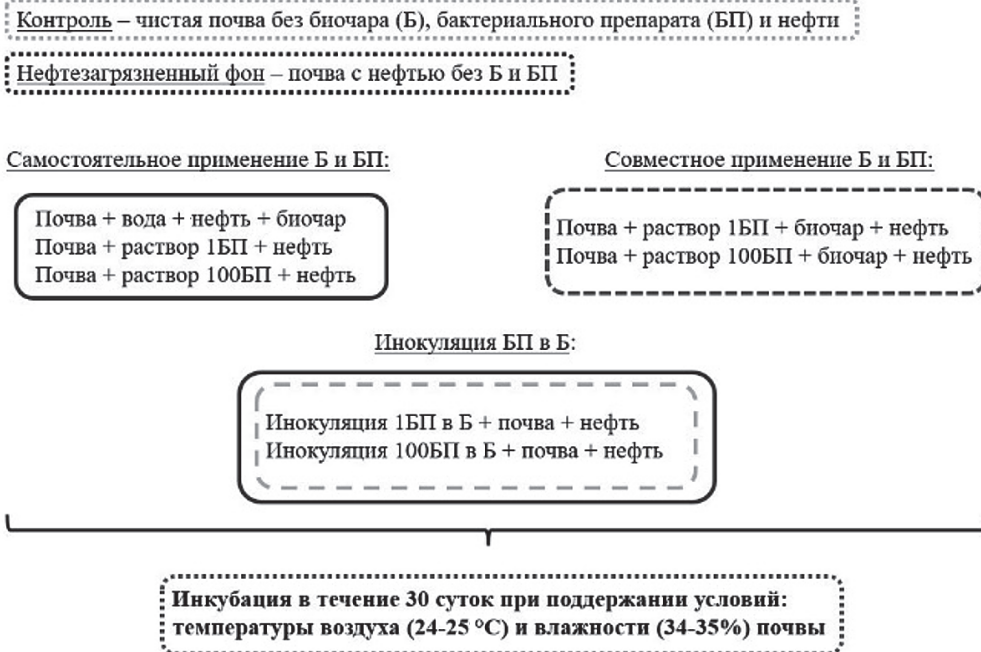
Объектом исследования был чернозем обыкновенный карбонатный (Апах, 0–25 см). Место отбора – Ботанический сад Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону. Физико-химические свойства чернозема: pH 7,5–7,8, содержание органического вещества 5,5–6,0%, содержание карбонатов 0,3–0,5%, сумма поглощенных оснований 34,0–36,0 мг-экв/100 г почвы [4].

Биочар представлял собой чистый древесный уголь березы (*Betula alba* L.) марки А ГОСТ 7657-84 с содержанием углерода не менее 85%. Продукт производится методом пиролиза древесины (800 °C) в ретортных установках без доступа кислорода (ООО «ДианаАГРО», Новосибирск, Россия). Продукт имеет высокое содержание углерода (не менее 85%), не содержит вредных и токсичных примесей. По отношению к нефтяным углеводородам биочар служит сорбентом и стимулятором нативной биоты почвы.

Биологический препарат, обладающий биофунгицидным действием в отношении грибов рода *Fusarium*, на основе консорциума штаммов аэробных спорообразующих бактерий *Bacillus amyloliquefaciens* V3.14 и R4.6, *Paenibacillus polymyxa* R5.31, а также *Paenibacillus peoriae* O1.27, O2.11, R3.13, R4.5 и R6.14, и *Paenibacillus jamilae* K1.14, R4.24 был разработан в лаборатории новых биопрепаратов Академии биологии и биотехнологии Южного федерального университета [21]. В данном исследовании этот бактериальный препарат вносили в дозе, соответствующей рекомендуемой 20 мл/га, что эквивалентно 7500 КОЕ/кг почвы (1БП). Такая доза применяется на сельскохозяйственных полях для подавления грибов р. *Fusarium* при обработке растений по листу. В связи с тем, что для разложения нефтяных углеводородов необходима значительная концентрация бактерий, дополнительно была исследована в 100 раз большая доза препарата (100БП).

Эксперимент по загрязнению почв нефтью и ремедиации биочаром и БП при различных комбинациях и методах внесения проводили в лабораторных условиях кафедры экологии и природопользования и молодежной лаборатории экобиотехнологий диагностики и охраны здоровья почв. Схема эксперимента представлена на рис. 1. Подготовленную почву, просеянную через сито 3 мм, развешивали по вегетативным сосудам объемом 300 мл. Повторность каждого варианта модельного эксперимента трехкратная.

Варианты с биочаром и нефтью предварительно увлажняли (влажность 35%) дистиллированной водой. После этого в почву вносили нефть – 5% массы почвы. Использовали нефть Новошахтинского НПЗ (г. Новошахтинск, Ростовская область), представляющую собой смесь углеводородов с плотностью 0,818 г/м<sup>3</sup>, массовыми долями серы 0,43%, механических примесей 0,0028%, воды 0,03%, с концентрацией хлористых солей 40,1 мг/дм<sup>3</sup>. Биочар вносили в почву в концентрации 1% массы почвы. Контролем служила почва без ремедиантов и нефти. Нефтезагрязненным фоном служила почва с нефтью без внесения биочара и БП. Варианты почвы с БП предварительно поливали водным раствором БП (1БП и 100БП), а затем в увлажненную почву вносили нефть. Все варианты внесения биочара и БП вместе с контролем (незагрязненная почва без ремедиантов и нефти) и фоном (загрязненная нефтью почва) инкубировали при влажности 33–35% и температуре 25–26 °C в течение 30 суток. В почву вносили бактериальный препарат в рекомендуемой дозе (1БП) и в 100 раз больше рекомендуемой (100БП). В варианте обработки с предварительной инокуляцией БП в биочар проводили замачивание подготовленного биочара в растворе бактериального препарата в течение 48 часов. По истечении времени инокуляции биочар с остатками раствора БП переносили в почву и увлажняли до необходимой влажности, далее в почву вносили нефть.



**Рис. 1.** Схема эксперимента по ремедиации нефтезагрязненной почвы с помощью самостоятельного, совместного применения биочара и БП, инокуляции биочара БП

Содержание нефти после различных вариантов обработки почвы анализировали экстракцией образцов почвы четыреххлористым углеродом с последующим определением оптической плотности экстракта на инфракрасном анализаторе ИКН-025<sup>2</sup>. Содержание нефти в почве выражали в мг нефти на 1 кг почвы.

Для оценки экологического состояния почв после ремедиации определяли активности гидролазы и оксидоредуктазы, непосредственно связанных с циклом углерода в почве: инвертазы (класс гидролазы) и дегидрогеназы (класс оксидоредуктазы).

Для определения активности инвертазы ( $\beta$ -фруктофуранозидаза, сахараза, КФ 3.2.1.26) к каждому варианту почвы массой 1 грамм в трехкратной повторности приливали 3% раствор сахарозы и толуол. Колбы инкубировали в течение 24 часов при 30 °С. Активности инвертазы определяли по Бертрану в модификации Ф.Х. Хазиева [19]. Активность фермента выражали в мг глюкозы в 1 г почвы за 24 часа.

Активность дегидрогеназы (НАДФ-оксидоредуктазы, КФ 1.1.1.X) определяли по восстановлению трифенилтетразолия хлористого (ТТХ) до трифенилформазанов (ТФФ) в анаэробных условиях: в каждую

пробирку с почвой (1 г) приливали 1 мл ТТХ и 1 мл 0,1 М глюкозы. Пробирки инкубировали в вакуумном эксикаторе без воздуха в течение 24 часов [19]. Ферментативную выражали в мг ТФФ в 10 г почвы за 24 часа.

Статистическую обработку данных проводили с использованием STATISTICA 12.0 и Python 3.6.5 Matplotlib.

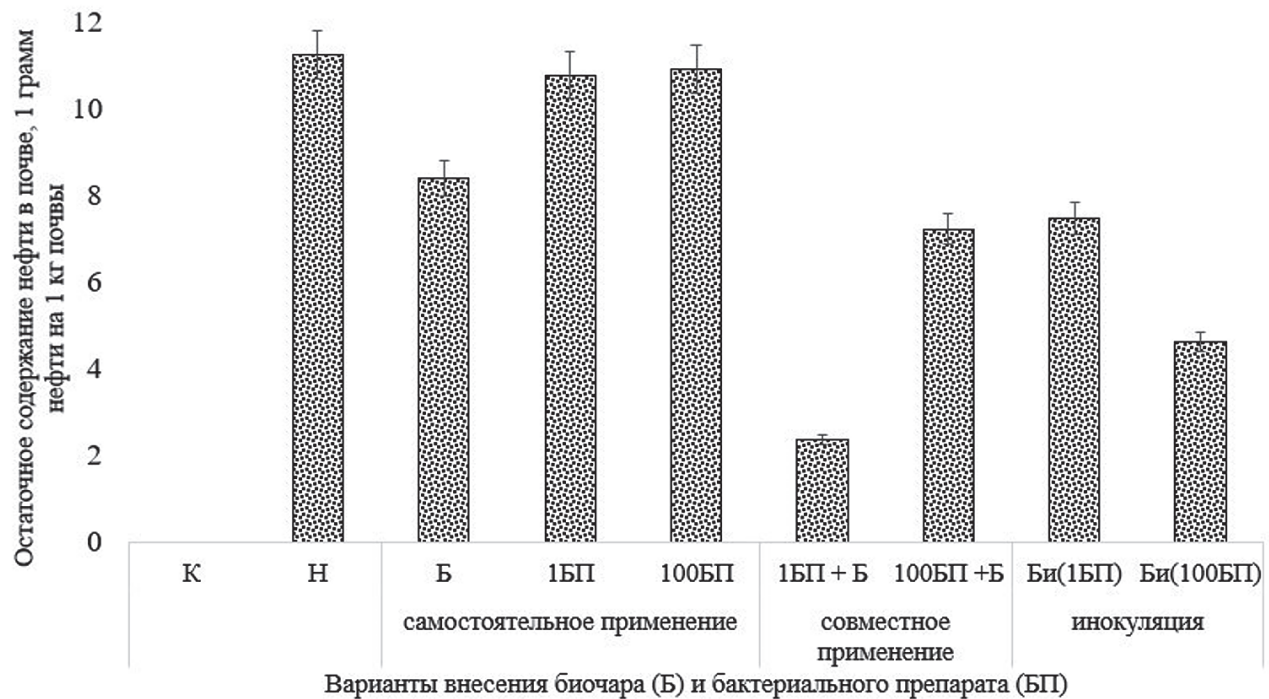
## Результаты и обсуждение

### Остаточное содержание нефти в почве

Остаточное содержание нефти в почве по истечении 30 суток эксперимента при внесении биочара и БП по отдельности или совместно, а также при инокуляции БП в биочар представлено на рис. 2. Внесение 1БП и 100БП не оказывало достоверного воздействия на разложение нефти. Внесение биочара привело к разложению нефти на 25% относительно нефтезагрязненного фона (без ремедиантов). Это может быть обусловлено сорбцией нефти из почвы биочаром. Подобное снижение содержания нефти наблюдали после внесения угольного сорбента в сточные воды [6, 18]. Также на скорость разложения нефти в почве после внесения биочара могут влиять разлагающие нефть микроорганизмы, простимулированные биочаром [13].

При совместном внесении биочара с бактериальным препаратом в дозах 1БП и 100БП установлено снижение содержания нефти на 79 и 36%, соответственно,

<sup>2</sup> ПНД Ф 16.1: 2.2.22-98. Количественный химический анализ почв. Методы измерения массовой доли нефтепродуктов в минеральных, органических, органоминеральных грунтах и донных отложениях методом ИК-спектроскопии. 1998. Доступно по ссылке <https://www.russiangost.com/p-162437-pnd-f-1612222-98.aspx>. Дата обращения: 12-04-2023.



**Рис. 2.** Остаточное содержание нефти в черноземе обыкновенном после внесения биочара и бактериального препарата в различных вариантах внесения, г/кг почвы  
 Обозначения: К – контроль; Н – нефть; Б – биочар; 1БП – бактериальный препарат в рекомендуемой дозировке; 100БП – бактериальный препарат в дозировке, в 100 раз превышающей рекомендуемую; Б+1БП – биочар с бактериальным препаратом в рекомендуемой дозировке; Б+100БП – биочар с бактериальным препаратом в дозировке, в 100 раз превышающей рекомендуемую; Би(1БП) – биочар, инокулированный бактериальным препаратом в рекомендуемой дозировке; Би(100БП) – биочар, инокулированный бактериальным препаратом в дозировке в 100 раз выше рекомендуемой.  
 Примечание: представлены средние и 95% доверительные интервалы

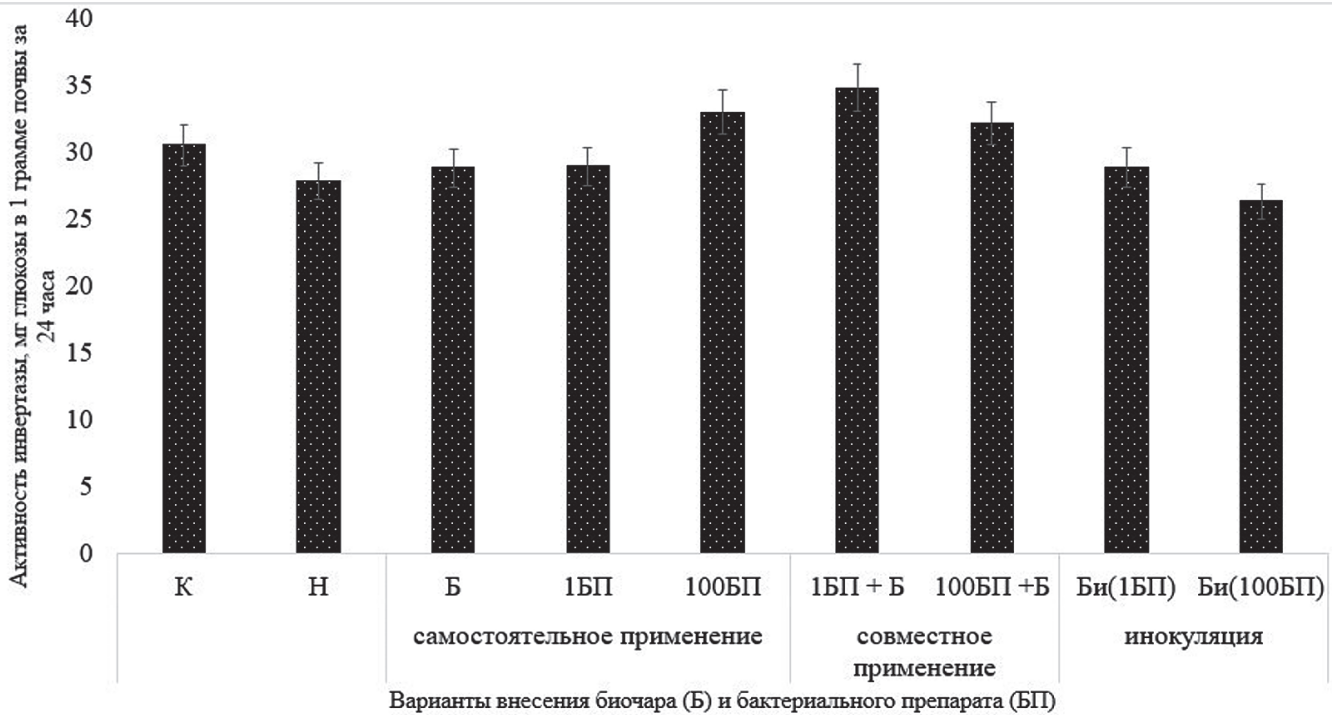
при сравнении с нефтезагрязненным фоном без ремедиантов. При инокуляции биочара бактериальным препаратом установлено снижение содержания нефти при 1БП и 100БП на 33 и 59%, соответственно, относительно фонового содержания нефти. Внесение биочара с 1БП было более эффективно, поскольку совмещены механизмы адсорбции нефти (биочар) и стимуляции разложения нефти с помощью БП. Более высокая дозировка 100БП при разложении нефти в почве была менее эффективной, возможно потому, что бактерии очень требовательны к условиям среды, включая температуру (до 40 °С), влажность и наличие питательных элементов в почве [17].

Вероятно, что внесение биочара, обработанного БП, менее эффективно, чем совместное внесение биочара и БП, потому что на деградацию нефти суспендированными (совместно внесенными с биочаром) и иммобилизованными на биочаре микроорганизмами значительно влияет температура: при 22 °С биodeградация нефти эффективнее осуществлялась иммобилизованными клетками, а при 38 °С – суспендированными [12]. На эффективность иммобилизации также оказывает влияние длительность ремедиации [25, 31].

### Изменение активности инвертазы

При внесении биочара и БП по отдельности активность инвертазы не отличалась от таковой в нефтезагрязненном фоне (рис. 3).

Только при внесении 100БП наблюдали стимуляцию активности фермента на 18% относительно нефтезагрязненного фона. При совместном применении биочара с 1БП и биочара с 100БП установлена стимуляция активности фермента на 25 и 15% относительно таковой у нефтезагрязненного фона. При инокуляции 1БП в биочар достоверные отличия от нефтезагрязненного фона не выявлены, а при инокуляции 100БП в биочар установлено ингибирование активности инвертазы на 13% относительно таковой в нефтезагрязненном фоне. Известно, что активность инвертазы тесно связана с влажностью почвы. В модельном эксперименте влажность почвы в течение всего эксперимента поддерживалась на одинаковом уровне (контроль проводили с помощью влагомера) и на момент окончания эксперимента влажность составляла 30%. В связи с этим только при совместном применении биочара и БП, а также 100БП при данной влажности почвы установлена максимальная стимуляция активности фермента.



**Рис. 3.** Изменение активности инвертазы после внесения биочара и бактериальным препаратом, мг глюкозы / 1 г / 24 часа.

Примечание: обозначения вариантов эксперимента те же, что на рис. 2

### Изменение активности дегидрогеназ

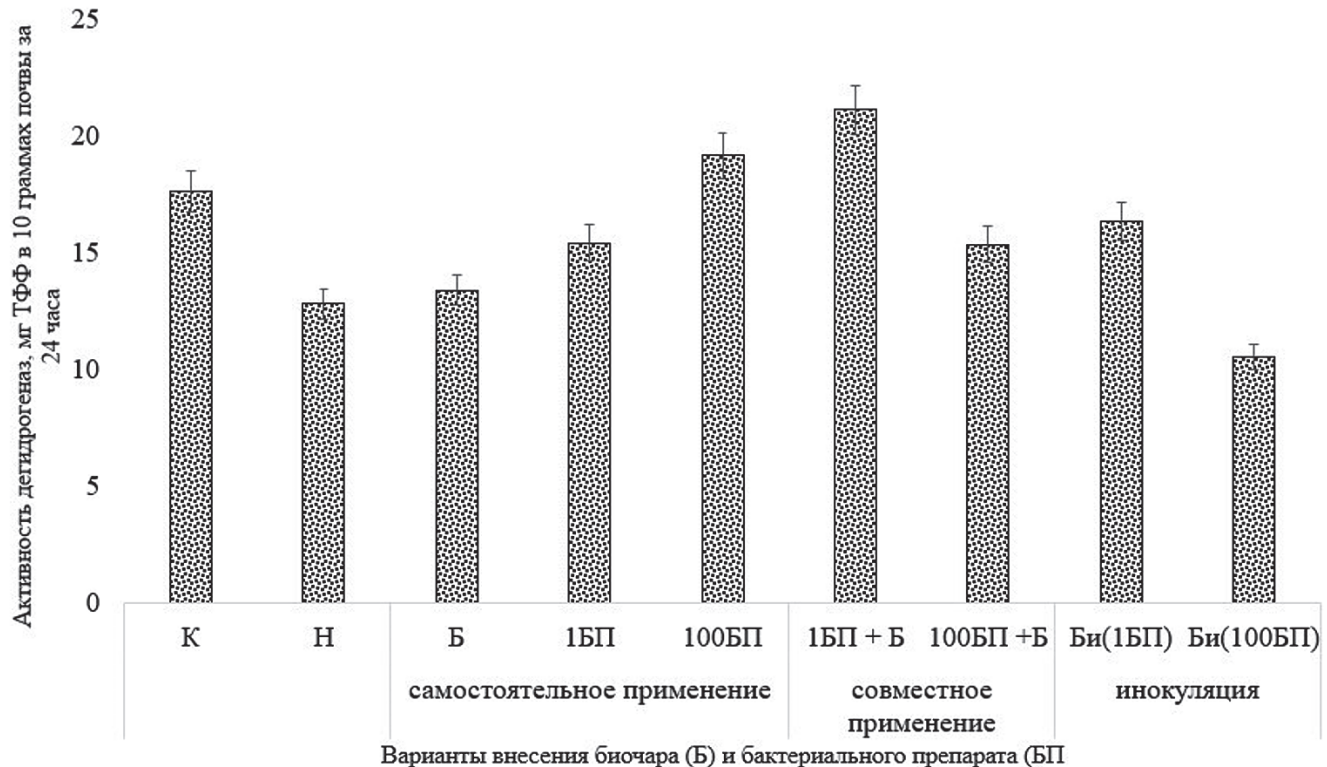
Активность дегидрогеназ при внесении биочара достоверно не отличалась от контроля. При внесении же бактериального препарата в дозах 1БП и 100БП установлена стимуляция активности дегидрогеназ на 20 и 49% соответственно (рис. 3).

При совместном применении биочара с бактериальным препаратом стимуляция активности дегидрогеназ составила при дозах 1БП и 100БП на 65 и 20% соответственно. При инокуляции биочара бактериальным препаратом стимуляция установлена только с 1БП – на 28%. Применение инокуляции 100БП в биочар вызвало ингибирование активности фермента на 18%.

Для оценки информативности показателей были рассчитаны коэффициенты корреляции ( $r$ ) между остаточным содержанием нефти и изменением активности инвертазы и дегидрогеназ. При воздействии ремедиантов по отдельности стимуляция активности инвертазы обнаружена при внесении 100БП, однако содержание нефти при этом не отличалось от фона ( $r = 0,18$ ). При внесении 1БП+Б, 100БП+Б установлена отрицательная корреляция по активности инвертазы ( $r = -0,98$ ) и по активности дегидрогеназ ( $r = -0,98$ ). При инокуляции биочара 1БП активность инвертазы была простимулирована на 15%, а при инокуляции биочара 100БП достоверного от-

личия от фона не обнаружено ( $r = 0,53$ ). Инокуляция биочара БП не оказывала достоверного воздействия на активность дегидрогеназ, при инокуляции биочара 100БП оказывала ингибирующее воздействие ( $r = 0,31$ ). Внесение нефти в почву ингибирует активность ферментов как класса оксидоредуктазы (дегидрогеназы), так и класса гидролазы (инвертаза). Ранее было установлено, что участие инвертазы в цикле углерода в почве является маркером экологического состояния почвы при различных видах антропогенного воздействия [11, 15, 29]. При углеводородном загрязнении активность инвертазы вместе с эмиссией  $\text{CO}_2$  является наиболее чувствительным показателем состояния почвы после внесения азотных и гуминовых ремедиантов [10]. Активность дегидрогеназ чернозема обыкновенного и бурой лесной почвы при загрязнении нефтью была наиболее информативной среди остальных ферментов класса оксидоредуктазы при внесении биочара, нитроаммофоса, гумата натрия и «Байкал ЭМ-1» [28].

В нашем исследовании установлено, что активность инвертазы и дегидрогеназ нефтезагрязненного чернозема зависела от формы внесения биочара и БП: более эффективно совместное внесение биочара и БП, чем самостоятельное внесение и инокуляция БП на биочаре. Основным фактором, влияющим на выбор метода внесения ремедиантов в нефтезагрязненную почву,



**Рис. 4.** Изменение активности дегидрогеназ после внесения биочара и бактериального препарата в различных вариантах внесения, мг ТФФ / 10 г / 24 часа.

Примечание: обозначения вариантов эксперимента те же, что на рис. 2

является температура почвы, поскольку при температуре выше 30 °С более эффективную жизнедеятельность осуществляют бактерии в суспендированном с биочаром виде, чем инокулированные на биочаре БП, для деятельности которых необходима более низкая температура (20–22 °С) [12]. Следует учитывать, что эффективность инокуляции может быть ярко выражена за более длительный период, чем для обычного внесения биочара и БП.

Использование биологических показателей экологического состояния почвы наряду с физико-химическими показателями позволит спрогнозировать воздействие загрязняющих веществ (в частности нефти и нефтепродуктов) на почву до и после ремедиации с использованием чувствительных индикаторов. Вместе с реализацией биогеосистемотехнических мер [8] это позволит использовать биологические показатели для нормирования содержания загрязняющих веществ в почве.

### Заключение

В результате исследования было установлено, что активность инвертазы и дегидрогеназ нефтезагрязненной почвы после внесения биочара и бактериального препарата (БП) изменяется в зависимости от способа внесения биочара и БП. При совместном вне-

сении биочара и БП и инокуляции установлено наибольшее снижение остаточного содержания нефти. Наиболее эффективным является совместное внесение биочара и 1БП: установлена стимуляция активности инвертазы и дегидрогеназ при снижении остаточного содержания нефти в почве, что подтверждено высокими коэффициентами корреляции. Результаты исследования возможно использовать при оценке экологического состояния нефтезагрязненного чернозема, а также для организации и проведения природоохранных мероприятий по ремедиации почв.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке проекта Программы стратегического академического лидерства Южного федерального университета («Приоритет 2030») по созданию Молодежной лаборатории эковиотехнологий диагностики и охраны здоровья почв (№ СП-12-23-01), проекта Минобрнауки России «Лаборатория молодых ученых» в рамках Межрегионального научно-образовательного центра Юга России (№ ЛабНОЦ-21-01АБ, FENW-2021-0014).*

*Авторы выражают благодарность в предоставлении бактериального препарата профессору кафедры генетики Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Иванковского Южного федерального университета д.б.н. В.А. Чистякову.*

## Литература

## Список русскоязычной литературы

1. Антоненко АМ, Занина ОВ. Влияние нефти на ферментативную активность аллювиальных почв Западной Сибири. Почвоведение. 1992;1:38-43.
2. Бикташева ЛР, Савельев АА, Курынцева ПА, Селивановская СЮ, Галицкая ПЮ. Оценка динамики количества генов, ответственных за деградацию нефтепродуктов в загрязненной почве. Ученые записки Казанского университета. Серия: Естественные науки. 2019;161.2:255-74. DOI: 10.26907/2542-064X.2019.2.255-274.
3. Бикташева ЛР, Селивановская СЮ, Галицкая ПЮ. Изменение структуры грибного сообщества почв при высоком содержании нефти в условиях модельного эксперимента. Ученые записки Казанского университета. Серия: Естественные науки. 2020;162.4:573-91. DOI: 10.26907/2542-064X.2020.4.573-591.
4. Вальков ВФ, Казеев КШ, Колесников СИ. Почвы Юга России. Ростов-на-Дону; 2008.
5. Галиева ГШ, Курынцева ПА, Галицкая ПЮ, Тагиров МШ, Селивановская СЮ. Влияние биочара из куриного помета на микроорганизмы и растения. Ученые записки Казанского университета. Серия: Естественные науки. 2021;163.2:221-37. DOI: 10.26907/2542-064X.2021.2.221-237.
6. Домрачева ВА, Трусова ВВ, Остапчук ДЕ. Очистка сточных вод от нефтепродуктов с использованием углеродных сорбентов и отходов пенополимеров. Экология и промышленность России. 2017;21.11:25-9. DOI: 10.18412/1816-0395-2017-11-25-29.
7. Жаббаров ЗА, Номозов УМ, Бахранова МФ, Абдукаримов ЖЖ. Изменение ферментативной активности нефтезагрязненных почв. Научное обозрение. 2023;1:18-23.
8. Калиниченко ВП, Глинушкин АП, Свидзинский АВ, Минкина ТМ, Будынков НИ, Филиппчук ОД, Околелова АА, Макаренков ДА. Методология биогеосистемотехники для здоровья и продуктивности почвы (обзор). Биосфера. 2022;14.3:175-92. DOI: 10.24855/biosfera.v14i3.694.
9. Кузина ЕВ, Рафикова ГФ, Мухаматдырова СР, Шарипова ЮЮ, Коршунова ТЮ. Биологическая активность чернозема выщелоченного при нефтяном и хлоридно-натриевом загрязнении и влияние на нее обработки галотолерантными бактериями-нефтедеструкторами. Почвоведение. 2023;1:89-101. DOI: 10.31857/S0032180X22600718.
10. Минникова ТВ, Колесников СИ, Денисова ТВ. Влияние азотных и гуминовых удобрений на биохимическое состояние нефтезагрязненного чернозема. Юг России: Экология, развитие. 2019;14.2:189-201. DOI: 10.18470/1992-1098-20192-189-201.
11. Минникова ТВ, Русева АС, Колесников СИ. Оценка ферментативной активности нефтезагрязненного чернозема после биоремедиации. Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2022;5:5-20. DOI: 10.26897/0021-342X-2022-5-5-20.
12. Муратова АЮ, Панченко ЛВ, Дубровская ЕВ, Любунь ЕВ, Голубев СН, Сунгурцева ИЮ, Захаревич АМ, Бикташева ЛР, Галицкая ПЮ, Турковская ОВ. Биоремедиационный потенциал иммобилизованных на биочаре бактерий *Azospirillum brasilense*. Микробиология. 2022;91.5:554-64. DOI: 10.31857/S0026365622100263.
13. Мязин ВА, Исакова ЕА, Васильева ГК. Влияние гранулированного активированного угля на скорость биоремедиации почв Мурманской области, исторически загрязненных нефтепродуктами. Проблемы региональной экологии. 2020;2:20-6. DOI: 10.24411/1728-323X-2020-12020.
14. Новоселова ЕИ, Киреева НА. Ферментативная активность почв в условиях нефтяного загрязнения и ее биодиагностическое значение. Теоретическая и прикладная экология. 2009;2:4-12.
15. Поляк ЮМ, Сухаревич ВИ. Почвенные ферменты и загрязнение почв: биodeградация, биоремедиация, биоиндикация. Агрохимия. 2020;3:83-93. DOI: 10.31857/S0002188120010123.
16. Смирнова ЕВ, Гиниятуллин КГ, Валеева АА, Ваганова ЕС. Пироугли как перспективные почвенные мелиоранты: оценка содержания и спектральные свойства их липидных фракций. Ученые записки Казанского университета. Серия: Естественные науки. 2018;160.2:259-75.
17. Созина ИД, Данилов АС. Микробиологическая ремедиация нефтезагрязненных почв. Записки Горного института. 2023;260:297-312. DOI: 10.31897/PMI.2023.8.
18. Трусова ВВ. Угольно-сорбционная технология очистки нефтесодержащих сточных и оборотных вод. Водоочистка. 2014;12:32-41.
19. Хазиев ФХ. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука; 2005. С. 252.
20. Хазиев ФХ, Фатхиев ФФ. Изменение биохимических процессов в почвах при нефтяном

загрязнении и активация разложения нефти. *Агрохимия*. 1981;1.10:102-11.

21. Чистяков ВА, Горовцов АВ, Усатов АВ, Праздникова ЕВ, Мазанко МС, Брен АБ, Усатова ОА, Васильченко НГ. Патент № 2751487 С1 Россия, МПК: А01Н 63/22; Способ получения жидкой питательной среды и способ получения жидкого микробиологического средства на основе смеси штаммов спорообразующих бактерий-антагонистов фитопатогенных грибов Фузариоз: № 2020122106: приоритет от 03.07.2020: публикация: 14.07.2021.
- Общий список литературы/References**
1. Antonenko AM, Zanina OV. [The influence of oil on the enzymatic activity of alluvial soils of Western Siberia]. *Pochvovedeniye*. 1992;1:38-43. (In Russ.)
  2. Biktasheva LR, Savelyev AA, Kuryntseva PA, Selivanovskaya SY, Galitskaya PY. [Assessment of the dynamics of the number of genes responsible for the degradation of petroleum products in contaminated soil]. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta Seriya Yestestvennye Nauki*. 2019;161.2:255-74. DOI: 10.26907/2542-064X.2019.2.255-274. (In Russ.)
  3. Biktasheva LR, Selivanovskaya SY, Galitskaya PY. [Changes in the structure of the fungal community of soils with high oil content under the conditions of a model experiment]. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta Seriya Yestestvennye Nauki*. 2020;162.4:573-591. DOI: 10.26907/2542-064X.2020.4.573-591. (In Russ.)
  4. Val'kov VF, Kazeyev KSh, Kolesnikov SI. *Pochvy Yuga Rossii*. [Soils of the South of Russia]. Rostov-on-Don; 2008. P. 275. (In Russ.)
  5. Galiyeva GS, Kuryntseva PA, Galitskaya PYu, Tagirov MS, Selivanovskaya SY. [The influence of biochar from chicken manure on microorganisms and plants]. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta Seriya Yestestvennye Nauki*. 2021;163.2:221-37. DOI: 10.26907/2542-064X.2021.2.221-237. (In Russ.)
  6. Domracheva VA, Trusova VV, Ostapchuk DE. [Purification of wastewater from petroleum products using carbon sorbents and waste polymer foams]. *Ekologiya i Promyshlennost Rossii*. 2017;21.11:25-9. DOI: 10.18412/1816-0395-2017-11-25-29. (In Russ.)
  7. Zhabbarov ZA, Nomozov UM, Bakhranova MF, Abdugarimov LJ. [Changes in the enzymatic activity of oil-contaminated soils]. *Nauchnoye Obozreniye*. 2023;1:18-23. (In Russ.)
  8. Kalinichenko VP, Glinushkin AP, Svidzinsky AV, Minkina TM, Budynkov NI, Filipchuk OD, Okolelova AA, Makarenkov DA. [Biogeosystems methodology for soil health and productivity (review)]. *Biosfera*. 2022;14.3:175-92. DOI: 10.24855/biosfera.v14i3.694. (In Russ.)
  9. Kuzina YeV, Rafikova GF, Mukhamatdyarova SR, Sharipova YuYu, Korshunova TYu. [Biological activity of chernozem leached due to oil and sodium chloride pollution and the influence of treatment with halotolerant oil-destroyer bacteria on it]. *Pochvovedeniye*. 2023;1:89-101. DOI: 10.31857/S0032180X22600718. (In Russ.)
  10. Minnikova TV, Kolesnikov SI, Denisova TV. [The influence of nitrogen and humic fertilizers on the biochemical state of oil-contaminated chernozem]. *Yug Rossii Ekologiya Razvitiye*. 2019;14.2:189-201. DOI: 10.18470/1992-1098-20192-189-201000. (In Russ.)
  11. Minnikova TV, Ruseva AS, Kolesnikov SI. [Assessment of enzymatic activity of oil-contaminated chernozem after bioremediation]. *Izvestiya Timiriyazevskoy Selskokhoziyaistvennoy Akademii*. 2022;5:5-20. DOI: 10.26897/0021-342X-2022-5-5-20. (In Russ.)
  12. Muratova AY, Panchenko LV, Dubrovskaya EV, Lyubun EV, Golubev SN, Sungurtseva IY, Zakharevich AM, Biktasheva LR, Galitskaya PY, Turkovskaya OV. [Bioremediation potential of *Azospirillum brasilense* bacteria immobilized on a biochar]. *Mikrobiologiya*. 2022;91.5:554-64. DOI: 10.31857/S0026365622100263. (In Russ.)
  13. Miazin VA, Isakova YeA, Vasilyeva GK. [Influence of granular activated carbon on the rate of bioremediation of soils in the Murmansk region historically contaminated with petroleum products]. *Problemy Regionalnoy Ekologii*. 2020;2:20-6. DOI: 10.24411/1728-323X-2020-12020. (In Russ.)
  14. Novoselova YeI, Kireyeva NA. [Enzymatic activity of soils under conditions of oil pollution and its biodiagnostic significance]. *Teoreticheskaya i Prikladnaya Ekologiya*. 2009;2:4-12. (In Russ.)
  15. Poliakov YM, Sukharevich VI. [Soil enzymes and soil pollution: biodegradation, bioremediation, bioindication]. *Agrokhimiya*. 2020;3:83-93. DOI: 10.31857/S0002188120010123. (In Russ.)
  16. Smirnova YeV, Giniyatullin KG, Valeyeva AA, Vaganova YeS. [Pyrochars as promising soil ameliorants: assessment of the content and spectral properties of their lipid fractions]. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta Seriya Yestestvennye Nauki*. 2018;160.2:259-75. (In Russ.)
  17. Sozina ID, Danilov AS. [Microbiological remediation of oil-contaminated soils]. *Zapiski Gornogo Instituta*. 2023;260:297-312. DOI: 10.31897/PMI.2023.8. (In Russ.)
  18. Trusova VV. [Coal-sorption technology for purification of oil-containing waste and recycled water]. *Vodochistka*. 2014;12:32-41. (In Russ.)



