

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
имени М.В.ЛОМОНОСОВА  
ФАКУЛЬТЕТ ПОЧВОВЕДЕНИЯ

*На правах рукописи*



**Гальцова Анастасия Дмитриевна**

**Агрохимическая и экологическая оценка применения комплекса  
минеральных удобрений и растений-ремедиантов при  
рекультивации нефтезагрязненных почв**

4.1.3. Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Научный руководитель:  
доктор биологических наук,  
профессор РАН  
Романенков Владимир Аркадьевич

Москва – 2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	8
1.1 Влияние нефти и нефтепродуктов на биологические и физико-химические свойства почв	8
1.2 Влияние нефтезагрязнения на рост и развитие растений.....	12
1.3 Влияние нефтезагрязнения на ферментативную активность почв .....	17
1.3.1 Ферменты класса оксидоредуктаз - каталаза, дегидрогеназа, пероксидаза, нитритредуктаза, нитратредуктаза.....	18
1.3.2 Ферменты класса гидролаз - протеаза, уреаза, фосфатаза, липаза, амилаза, аспарагиназа, глутаминаза, инвертаза, целлюлаза .....	20
1.4 Супрессивность почв.....	23
1.4.1 Понятие «супрессивности» почвы .....	23
1.4.2 Виды супрессивности почвы, используемые в оценке этого параметра.....	24
1.4.3. Методы определения почвенной супрессивности.....	27
1.4.4. Тест-объекты, используемые при определении супрессивности почвы.....	30
1.5 Показатели, используемые при исследовании нефтезагрязненных почв .....	31
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	35
2.1 Объекты исследований .....	35
2.2 Описания экспериментов.....	38
2.3 Методы исследования .....	40
2.3.1 Агрохимические свойства почв.....	40
2.3.2 Ферментативная активность почв .....	41
2.3.3 Микробиологические исследования почв .....	42
2.3.4 Определение содержания нефтепродуктов в почве .....	42
2.3.5 Определение супрессивности почвы .....	42
2.3.6 Статистическая обработка данных.....	45
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ .....	46
3.1 Влияние минеральных удобрений на агрохимические свойства нефтезагрязненных почв	46
3.1.1 Влияние минеральных удобрений на реакцию почвенного раствора .....	46
3.1.2 Влияние минеральных удобрений на содержание минерального азота в почве.....	49
3.1.3 Влияние минеральных удобрений на содержание подвижного фосфора в почве .....	57
3.1.4 Влияние минеральных удобрений на содержание обменного калия в почве.....	59
3.1.5 Основные результаты .....	62
3.2 Влияние минеральных удобрений на рост и развитие трав-ремедиантов при нефтезагрязнении .....	64
3.2.1 Влияние минеральных удобрений на продуктивность растений.....	64
3.2.2 Влияние минеральных удобрений на содержание азота в надземной биомассе растений.....	69

3.2.3 Влияние минеральных удобрений на содержание фосфора в надземной биомассе растений .....	71
3.2.4 Влияние минеральных удобрений на содержание калия в надземной биомассе растений .....	74
3.2.5 Основные результаты .....	77
3.3 Влияние минеральных удобрений на ферментативную активность почвы при нефтезагрязнении .....	79
3.3.1 Влияние минеральных удобрений на активность каталазы в почве.....	79
3.3.2 Влияние минеральных удобрений на активность уреазы в почве .....	84
3.3.3 Влияние минеральных удобрений на активность фосфатазы в почве .....	87
3.3.4 Основные результаты .....	89
3.4 Влияние минеральных удобрений на биологические свойства при нефтезагрязнении .....	92
3.4.1 Основные результаты .....	97
3.5 Влияние минеральных удобрений на эффективность деструкции нефти в почве.....	98
3.6 Оценка супрессивности нефтезагрязненной почвы .....	101
3.6.1 Основные результаты .....	104
3.7 Анализ главных компонент .....	106
3.7.1. Основные результаты .....	114
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	117
ВЫВОДЫ .....	119
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	121
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	141
Приложение 1.....	141
Приложение 2.....	153
Приложение 3.....	154
Приложение 4.....	155
Приложение 5.....	156
Приложение 6.....	157

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность работы.** Загрязнение почв нефтью и нефтепродуктами является серьезной экологической проблемой, требующей комплексного подхода для ее решения. Поллютанты попадают в окружающую среду из различных источников, возникающих в результате антропогенной деятельности. Очень часто, нефтяные углеводороды попадают в почву из-за случайных разливов в результате добычи, переработки или транспортировки нефти и продуктов ее переработки. Этот загрязнитель представляет серьезную опасность для почвенных экосистем, а также для здоровья человека.

Попадая в почву, нефтепродукты изменяют естественное экологическое равновесие, морфологические характеристики почвы и физико-химические свойства (Звягинцев и др., 1986, Пиковский, 1993; Габбасова, Абдрахманов, 1997; Гилязов, 1999). В целом, нарушается устойчивость природных экосистем и появляется существенная угроза для их безопасного функционирования.

На настоящий момент активно разрабатываются технологии ремедиации нарушенных земель. Особое внимание уделяется разработке биологических методов рекультивации, безвредных для окружающей среды и особенно привлекательных из-за их невысокой стоимости и относительно простого обслуживания (Mirsal, 2008; O'Brien et al., 2017, Манучарова и др., 2021; Созина, Данилов, 2023; Трофимов и др., 2023).

Среди большого разнообразия механизмов можно выделить биодеграцию и фиторемедиацию. В первом случае, используется потенциал каталитической активности автохтонных микробных сообществ для биологического разложения углеводородов нефти (Haritash, Kaushik, 2009; Declercq et al., 2012; Hesnawi, Adbeib, 2013; Guarino et al., 2017; Varjani, 2017; Varjani, Upasani, 2017; Innemanova et al., 2018). Фиторемедиация основана на использовании растительности и связанных с ней микроорганизмов для удаления и обезвреживания загрязняющих веществ из почвенной среды (Diab, 2008; Gerhardt et al., 2017; Guarino et al., 2017; Garcia-Sanchez et al., 2018; Abdullah et al., 2020). Данные подходы можно использовать не только сами по себе, но и в сочетании, что, как правило, приводит к повышению эффективности ремедиации загрязненных земель. В ряде исследований отмечается значительный синергетический эффект взаимодействия микроорганизмов и растений в ризосфере (Singh, Jain, 2003; Ying et al., 2011; Al-Baldawi et al., 2017), который может быть связан с увеличением адсорбционной способности корней или с повышением биодоступности питательных элементов в ризосфере для микроорганизмов (White, 2001; Glick, 2003, 2010).

Ключевым аспектом данных методов может стать использование агрохимических средств для оптимизации условий питания и развития как растений, так и автохтонных микроорганизмов

в почве (Hesnawi, Adbeib, 2013; Suja et al., 2014; Wu et al., 2016, 2020). Использование, в частности минеральных удобрений, позволяет улучшить характеристики среды обитания растения и микробиоты, стимулируя их биологическую активность и, как следствие, усиливая процессы деградации углеводородов нефти.

**Цель и задачи.** Целью настоящей работы являлось изучение возможностей оптимизации агрохимических свойств нефтезагрязненных почв путем применения различных форм азотных удобрений для повышения эффективности растений-ремедиантов и автохтонных микроорганизмов-нефтедеструкторов.

**В задачи исследования** входило:

- 1) определение влияния нефтезагрязнения на агрохимические свойства почвы;
- 2) оценка воздействия поллютанта на рост и развитие растений-ремедиантов;
- 3) определение влияния нефтезагрязнения на биологические свойства почвы;
- 4) определение изменения остаточного содержания нефтепродуктов в почве под влиянием агрохимических средств и фиторемедиантов;
- 5) оценка супрессивности нефтезагрязненной почвы с использованием метода биотестирования;
- 6) выбор показателей, наиболее эффективно отражающих процессы восстановления почвы.

**Научная новизна.** Впервые показано, что в наибольшей степени различия в эффективности деструкции нефти в почве и развитии биомассы растений-ремедиантов определяются комплексом биологических показателей, влияние которых опосредуется буферными свойствами почвы. Это влияние определяет качественный состав растений для чернозема типичного; для олиготрофной торфяной почвы, он в большей степени зависит от агрохимических свойств почвы и условий произрастания растений.

Впервые предложены наиболее эффективные формы азотных удобрений для каждого изученного типа почв на основе комплекса 15-ти показателей, характеризующих агрохимические и биологические свойства почв, их ферментативную активность, эффективность деструкции нефти в почве, а также продуктивность и химический состав трав-ремедиантов.

Впервые применена методика оценки супрессивности нефтезагрязненной почвы с использованием метода биотестирования. Были определены реакции системы почва-растения-фитопатоген в условиях нефтезагрязнения.

**Теоретическая и практическая значимость.** Сравнительная оценка влияния различных форм азотных удобрений позволяет выбрать наиболее эффективные из них для улучшения условий развития растений-ремедиантов и автохтонных нефтедеструкторов в почве. Оптимизация применения агрохимических средств в технологиях фиторемедиации и

биодegradации позволяет повысить их эффективность на нефтезагрязненных почвах. Проведённое исследование дает возможность разработки научно-обоснованного регламента по применению агрохимических средств на основе анализа комплекса агрохимических и биологических свойств почвы.

**Методология и методы исследования.** Методология исследования основывается на использовании вегетационного опыта, проводимого ежегодно в течении трех лет. В работе использован комплекс агрохимических и микробиологических методов и подходов. Полученные результаты подвергались статистической обработке.

**Основные положения, выносимые на защиту.**

1. Комплексное влияние минеральных удобрений на процессы фиторемедиации НЗ почвы достигнуто за счёт улучшения характеристики среды обитания трав-ремедиантов и автохтонной микробиоты, стимуляции их биологической активности.

2. Снижение содержания НП активизировалось изменением формы азотных удобрений, в наибольшей степени - при использовании аммонийно-нитратной формы на торфяной олиготрофной почве и нитратной - на черноземе типичном.

3. Оптимизация агрохимического фона с помощью минеральных удобрений повышает активность уреазы, фосфатазы и каталазы в 2-3 раза и увеличивает количество ДНК бактерий и архей до 2 раз по сравнению с незагрязнённой почвой.

4. На эффективность деструкции нефти в почве и развитие растений-ремедиантов максимальное влияние оказали биологические свойства почвы, влияние которых опосредовалось её буферными свойствами.

5. Разработан комплекс из 15 показателей, характеризующих агрохимические и биологические свойства почв, как перспективный для разработки научно-обоснованного регламента по применению агрохимических средств и выбора наиболее эффективных форм азотных удобрений.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Достоверность работы обусловлена большим объемом аналитического материала, использованием классических и современных подходов и методов. Вегетационные опыты и аналитические исследования проводились в трехкратной повторности. Все лабораторные и аналитические исследования проводились на современном оборудовании. Анализ и обобщение данных проводили с использованием современных методов статистической обработки экспериментальных данных.

Результаты исследований были представлены к обсуждению на Международных научно-практических конференциях: Международная научно-практическая конференция «Плодородие почв и эффективное применение удобрений», Минск, 22-25 июня 2021 г., Международной

научно-практической конференции «Здоровые почвы – гарант устойчивого развития», Курск, 30-31 марта 2023 г.

**Личный вклад автора.** Вклад автора состоял в организации и проведении всех исследований, предполагаемых программой работы. Автор непосредственно участвовал во всех вегетационных опытах и аналитических исследованиях, проанализировал и интерпретировал полученные экспериментальные данные, выполнил их статистическую обработку, подготовил текст и иллюстрации для публикации.

**Публикации.** По материалам диссертационной работы опубликовано 4 печатные работы: из них 4 статьи, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, индексируемых международными базами данных (Web of Science и Scopus), рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ имени М.В.Ломоносова. В работах, опубликованных в соавторстве, основополагающий вклад принадлежит соискателю.

**Объем и структура работы.** Диссертация изложена на 157 страницах и состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов и приложений. Диссертационная работа содержит 59 таблиц, 43 рисунка и список литературы из 237 наименований, из которых 117 на английском языке.

**Благодарности** Автор выражает глубокую благодарность своему научному руководителю, профессору, д.б.н. Романенкову Владимиру Аркадьевичу за помощь и ценные советы во время выполнения диссертационной работы. Автор выражает отдельную благодарность доценту, к.б.н. Арзамазовой Анне Вадимовне за помощь в проведении практического этапа исследования. Автор выражает признательность сотрудникам кафедры агрохимии и биохимии растений, к.б.н. Кинжаеву Руслану Рафаиловичу и к.б.н. Павлову Кириллу Васильевичу за помощь в выполнении работы. Также, автор благодарит сотрудника кафедры биологии почв, д.б.н. Манучарову Наталью Александровну за помощь в проведении исследований численности прокариот в почве. Автор выражает благодарность сотрудникам кафедры химии почв, к.б.н. Розановой Марине Сергеевне и к.б.н. Карпухину Михаилу Михайловичу за помощь в определении остаточного содержания нефтепродуктов в почве. Автор также выражает благодарность сотруднику кафедры биологии почв, к.б.н. Ивановой Анне Евгеньевне, за помощь в анализе супрессивности почвы.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Влияние нефти и нефтепродуктов на биологические и физико-химические свойства почв

На данный момент нефть и продукты ее переработки являются одними из самых опасных и распространенных загрязнителей окружающей среды. Вещества, входящие в его состав, представляют собой сложную смесь из различных фракций углеводородов. Многокомпонентный состав нефти и продуктов ее переработки является причиной того, что становится практически невозможно спрогнозировать последствия воздействия поллютанта на окружающую среду.

Не только сложность состава нефтепродуктов обуславливает характер поведения этого загрязнителя в почвенной экосистеме. Существует ряд внешних факторов, непосредственно не связанных с природой самого поллютанта. К этим факторам относят сложность и комплексность структуры самой экосистемы, подвергшейся воздействию загрязнителя, а также высокая изменчивость внешних факторов, влияющих на экосистему. В связи с этим, Пиковский Ю.И. (1988) отмечает, что: «... оценивать степень загрязнения и намечать пути рекультивации загрязненных почв необходимо с учетом сочетания всех этих факторов».

Ранее было отмечено, что нефтепродукты представляют собой смесь различных фракций (Пиковский, 1988; Nadim et al., 2000; Kronenberg et al., 2017). Вещества, входящие в состав нефти, обладают различной степенью токсичности, по-разному взаимодействуют с компонентами экосистемы и обладают неодинаковыми скоростью и характером деструкции в почве. Соответственно, степень и характер воздействия на окружающую среду может варьироваться в широких пределах в зависимости от качественного состава и количественных соотношений компонентов смеси. Можно наблюдать эффекты синергизма и антагонизма при взаимодействии одних компонентов нефти с другими. Поэтому необходимо оценивать последствия воздействия комплекса соединений в целом, и отдельных фракций в частности.

Выделяют несколько основных фракций нефти: легкая, соединения метановых углеводородов (в том числе твердые парафины), циклические углеводороды, смолы и асфальтены и серосодержащие соединения.

Легкие фракции нефтепродуктов могут быть представлены низкомолекулярными углеводородами с числом углеродных атомов в цепи от 5 до 11, а также ароматическими и нафтеновыми соединениями. Эти соединения относятся к группе наиболее летучих и подвижных компонентов нефти. Природа этих соединений обуславливает их легкость и быстроту миграции по почвенному профилю, что приводит к значительному расширению первичного ареала загрязнения.



При попадании легкой фракции нефти в почвы наблюдается токсическое и наркотическое действие на почвенные организмы (Jonker et al., 2006; Щемелина, 2008; Tang et al., 2011; Vázquez-Luna, 2015; Wang et al., 2017; Khan et al., 2018a). Снижение численности популяции может достигать 50% от изначального количества. Так Усачевой Ю.Н. была подсчитана численность микроорганизмов на участках сфагновых болот, загрязненных нефтепродуктами. На площадках с содержанием нефти 21,3% численность составила 200 тыс. микроорганизмов на 1 грамм почвы, что в 3,6 раза меньше чем на контроле (Усачева, 2012). Механизм такого рода изменений связан со способностью легких фракций растворять плазмалеммы и разрушать клеточные структуры. Однако, автором также отмечены изменения в составе микробного сообщества. Изменения структуры сообщества, в сторону увеличения численности организмов, резистентных к токсичным метановым и ароматическим углеводородам, выявлены также рядом других исследователей (Колесников, Казеев, 2006; Киреева и др., 2008). Активное развитие этих форм микроорганизмов представляет опасность из-за того, что продукты их жизнедеятельности высокотоксичны для растений при попадании их в прикорневую зону.

Отравляющее воздействие метановой фракции углеводородов нефти на микроорганизмы обратимо (Щемелина, 2008). Однако это возможно только в том случае, когда организм не подвергался воздействию других фракций нефтепродуктов. При этом стоит учитывать также время воздействия и концентрацию поллютанта. Если она оказалась выше предельно допустимого уровня для данного организма, восстановление нормальных процессов его жизнедеятельности невозможно (Чугунова, 2011).

Довольно часто нефть содержит в своем составе высокоминерализованные воды, которые могут усиливать токсическое действие легкой фракции нефти. Подобный эффект может наблюдаться и при попадании нефтепродуктов на засоленные почвы. При проведении мелкоделяночного опыта с пшеницей на черноземе, загрязненном нефтепродуктами, с использованием фитодиагностики был сделан вывод о том, что в варианте «нефть с солью» воздействие поллютанта на растения было сильнее, чем на варианте «нефть» (Трофимов и др., 2008). В соленой воде легкие компоненты нефти быстро растворяются, что увеличивает их токсичность для микроорганизмов и способствует миграции по профилю почвы.

Особенности природы соединений легкой фракции нефти определяют также и характер трансформации этих веществ в почве. Из-за высокой летучести до 40% метано-нафтеновых углеводородов испаряются из почвы, а остальные компоненты подвергаются фотохимическому окислению и вовлекаются в процессы микробиологической трансформации (Khan et al., 2018a).

Конечными продуктами таких реакций являются вода и углекислый газ, поэтому интенсивность протекания процессов самоочищения почв можно оценить по уровню эмиссии

углекислого газа. Подобные измерения проводились и Чугуновой М.В. в мелкоделяночном опыте на дерново-подзолистой почве Ленинградской области. Автором было отмечено значительное повышение эмиссии углекислого газа через 4 месяца после загрязнения почвы, по сравнению с контрольным вариантом (Чугунова, 2011). Это свидетельствует об интенсификации процессов биоразложения и химической трансформации нефтепродуктов.

Циклические углеводороды представляют собой обширную группу содержащую циклоалканы и ароматические соединения.

Ненасыщенные циклические углеводороды также, как и легкие фракции нефти оказывают токсичный эффект на почвенные организмы. Они способны выступать в роли гербицидов при загрязнении почвы нефтью. Особую опасность представляет также высокая устойчивость этих соединений к разрушению микробиологическим путем. Несмотря на то, что на настоящий момент выделено много штаммов микроорганизмов, способных разлагать циклические углеводороды (Маркелов, Меньших, 2015), эти соединения тяжело поддаются разрушению. Основными факторами, лимитирующими эти процессы, являются почвенно-климатические условия, а также характер и уровень загрязнения. Следует отметить, что в том случае, если складываются благоприятные условия для биологического разложения аренов, при их разрушении образуются кислые продукты деструкции, которые создают негативные условия для произрастания растений.

Высокомолекулярные ароматические структуры, смолы и асфальтены, входят в большую фракцию твердых и мазе подобных веществ. Эти соединения также обладают сильным токсическим эффектом, угнетают ферментативную активность и убивают почвенную фауну. Механизм подобного воздействия связан с наличием в составе этих структур тяжелых металлов, таких как ванадий, никель, кобальт, свинец, медь, мышьяк, ртуть, молибден и некоторые другие.

Отмечено также, что в результате активации микробного сообщества, может увеличиваться токсичность твердой фракции нефти (Ibrahim et al., 2013).

Помимо токсического эффекта, негативное воздействие смолисто-асфальтеновых веществ проявляется также в изменениях водно-физических свойств почв (Пиковский, 1988). Эти изменения вызывают наибольшие опасения. Гумусовый горизонт выступает в роли естественного геохимического барьера на пути к проникновению твердых фракций нефти и нефтепродуктов. Обладая высокой вязкостью и плотностью, они способны цементировать почву, впоследствии формируя большое количество водонепроницаемых структурных отдельных частей – агрегатов и глыб. Такая структура почвы не представляет собой агрономической ценности (Шамраев, Шорина, 2009; Khan et al., 2018a).

С вязкостью смолисто-асфальтеновых фракций связано также нарушение физико-химических процессов в почвах. Эти компоненты нефти обволакивают почвенные частицы, тем самым, нарушаются реакции ионного обмена между питательными элементами в ППК и почвенным раствором. Изменения подобного рода также могут спровоцировать нарушение питания растений, вследствие изменения баланса между основными элементами минерального питания в почвах.

При попадании твердой фракции изменения происходят и в водно-воздушном режиме почв. Нефтепродукты способны быстро и плотно закупоривать почвенные поры, из-за того, что имеют низкую температуру затвердевания. В результате, нарушается водно-воздушный обмен веществ с сопредельными средами.

Нарушение естественных процессов водо- и воздухообмена в почве под действием твердых фракций нефтепродуктов может, в свою очередь, привести к изменениям окислительно-восстановительного режима почв. Зачастую при нефтезагрязнении наблюдается преобладание анаэробных восстановительных условий, что связано с образованием корки на ее поверхности. Смена окислительно-восстановительных условий влечет за собой подавление нитрификации и усиление аммонификации. Это приводит к накоплению аммонийной формы азота до 20 – 40 мг/кг почвы (Габбасова и др., 1997).

Под влиянием нефтезагрязнения в почве происходят значительные изменения в структуре микробного сообщества (Пиковский, 1988, 1993; Фахрутдинов, 2005). Попадание поллютанта в почву вызывает бурный рост микроорганизмов-деструкторов нефти (Киреева и др., 2009). В процессе своей жизнедеятельности они не только выделяют токсичные метаболиты, но и потребляют большое количество минерального азота. В почвах, испытывающих значительную нагрузку в результате загрязнения нефтепродуктами, нарушается соотношение C:N, активизируются механизмы саморегуляции биохимических процессов, что приводит к «сужению» цикла круговорота азота. В результате в почве быстро уменьшается содержание азота, что на фоне достаточно большого количества поступающего углерода может вызвать ускорение процессов минерализации азота (Габбасова и др., 1997; Исмаилов и др., 1984).

Попадание загрязнителя в почву может вызывать также изменения в количественном соотношении различных форм азота. Количество обменного аммония имеет тенденцию к снижению в нефтезагрязненной почве в среднем на 50%. (Назарюк, Калимуллина, 2020). А содержание нитратной формы может увеличиваться до некоторых пределов при небольшом загрязнении, но почти полностью отсутствовать при большей дозе поллютанта (Шаркова, Надежкина, 2008). Наблюдается также уменьшение количества минерального и легкогидролизуемого азота в пахотном слое почвы под действием поллютанта, в отличие от

трудно- и негидролизующих форм, содержание которых в загрязненных вариантах увеличилось (Назарюк, Калимуллина, 2020).

«Сырой» или природной нефти зачастую сопутствуют газы и сильно минерализованные воды. Они значительно различаются по концентрации и химическому составу в зависимости от комплекса условий. Концентрация солей в воде может достигать 100 – 400 г/л. Химический состав в значительной степени определяет свойства водного раствора и характер его воздействия на почву. Среди всех компонентов преобладают катионы кальция и натрия, а также анионы хлора и йода. Эти ионы становятся основной причиной появления техногенного галогенеза почв. Наибольшую опасность представляет собой наличие ионов натрия, которые могут внедряться в почвенный поглощающий комплекс. Так как зачастую содержание натрия в нефтяных водах может достигать 30%, нередко случаи развития осолонцевания и образования техногенных солонцов и солончаков (Габбасова и др., 1997; Сулейманов, Назырова, 2007; Сулейманов и др., 2008). Помимо этого, попадая в ППК почвы, натрий вытесняет водород в почвенный раствор, что вызывает его подщелачивание, а также увеличение суммы поглощенных оснований (Kirk, 2005; Шаркова, 2011; Гранина, Напрасникова, 2014).

В результате попадания на почву высоко минерализованных растворов солей может произойти засоление грунтовых вод, так как нефтепромысловые воды обладают высокой миграционной способностью. В зависимости от почвенно-климатических условий, степени минерализации нефтяных вод, а также ландшафтного расположения можно наблюдать увеличение или уменьшение степени засоления с глубиной (Сулейманов и др., 2008).

Наряду с засолением отмечается также резкое повышение осмотического потенциала почвенного раствора под действием сопутствующих нефти вод. Подобное изменение неблагоприятно сказывается на процессах поглощения элементов питания корнями и растений из этого раствора (Рахимова и др., 2005).

Помимо физико-химических свойств, при попадании поллютанта в почву происходит деформация естественных морфологических свойств почв. Загрязненные нефтью почвы отличаются более темным цветом почвенных горизонтов, большей плотностью и твердостью структурных отдельностей. Отмечается наличие радужных пленок в горизонте вымывания и образование столбчатой структуры (Шамраев, Шорина, 2009).

## **1.2 Влияние нефтезагрязнения на рост и развитие растений**

Помимо воздействия на почву, ее физические, химические и биологические свойства нефтезагрязнение оказывает негативное влияние на другой компонент почвенной экосистемы – высшие растения. Этот вид загрязнения представляет серьезную опасность для произрастающих на почве растений, так как он характеризуется значительной длительностью воздействия на

экосистему и относительно медленной скоростью деструкции. К тому же, высшие растения обладают высокой чувствительностью к большинству компонентов, входящих в состав нефти. Восприимчивость растений к наличию поллютанта в почве используется в качестве индикатора экологического состояния нефтезагрязненных почв. Параметры развития растений, анализируемых в рамках проведения морфо-биометрической диагностики, могут дать объективную оценку степени загрязнения почв углеводородами и устойчивости растений к нефтезагрязнению (Vázquez-Luna, 2015; Haider et al., 2021).

Как и на почву, нефть оказывает комплексное воздействие на растения. Оно может быть прямым, связанным с токсическим эффектом нефтепродуктов, так и косвенным, связанным с изменением физико-химических свойств среды обитания (Васильконов, 2009; Borowik, Wyaszowska, 2018). Эффект воздействия поллютанта проявляется прежде всего в изменении видового состава фитоценоза и агрофитоценоза, снижении продуктивности растений и в полном исчезновении некоторых из них.

При попадании поллютанта в почву, с средним, снижение общей популяции растительного сообщества достигает 30% (Мифтахова, 2006). В зависимости от почвенно-климатических и ряда других условий, эта цифра может изменяться. В ряде случаев количество общей надземной биомассы может снизиться в 2,2 раза, при одновременном уменьшении количества произраставших видов на 66% (Сулонов, 2012а, 2012б).

Отмечено, что на территории Ямало-Ненецкого округа нефтезагрязненные почвы не могут обеспечить для растений достаточных условий для нормального роста и развития. Поэтому на почвах этого региона, подверженных аварийным разливам нефти, видовая насыщенность фитоценоза снизилась на 77% по сравнению с контрольными участками, а растительное сообщество было представлено отдельными всходами травянистой растительности (Мифтахова, 2006; Орлова и др., 2017).

Помимо изменения структуры и общего снижения популяции в фитоценозе, наблюдается также уменьшение биомассы растений (Мифтахова, 2006; Бородулина, Полонский, 2010; Сангаджиева и др., 2013; Nawrot-Paw et al., 2015; Borowik, Wyaszowska, 2018; Hussain et al., 2019; Haider et al., 2021). Снижение продуктивности растений – один из наиболее часто применяемых и репрезентативных тест-параметров, позволяющих оценить степень экологической нагрузки на окружающую среду (Vázquez-Luna, 2015). Так в опытах Бородулиной Т.С. в соавторстве с Полонским В.И., было зарегистрировано двукратное снижение накопленной биомассы яровой пшеницы, на загрязненной нефтью почве (концентрация поллютанта – от 3 до 6 г/кг) (Бородулина, Полонский, 2010). Исследования с другой тест-культурой – овсом, показали аналогичные результаты: на 31% сократилась биомасса растений при уровне загрязнения – 7 мл

нефтепродуктов/кг почвы и на 89% при увеличении концентрации загрязнителя в 3 раза (21 мг/кг) (Borowik, Wyaszowska, 2018). Для редиса порог токсичности соответствует 0,5 г нефти/кг почвы, для салата - 1 г/кг. Дозы загрязнения ниже пороговых значений оказывают стимулирующее действие и приводят к повышению биомассы в некоторых случаях на 30% (Сычев и др., 2014; Шигапов, 2016).

На ряду со снижением общей биомассы растений, при нефтезагрязнении наблюдаются изменения также ряда других морфометрических показателей растений, таких как: длина надземных и подземных органов, площадь и толщина листовых пластинок, количество побегов, а также количество колосьев, их длина и число зерен в колосе (Мифтахова, 2006; Бородулина, Полонский, 2010; Даурбекова и др., 2012; Сангаджиева и др., 2013; Кольцова и др., 2014, 2015; Nawrot-Paw et al., 2015; Hussain et al., 2019; Haider et al., 2021). В целом, при загрязнении почвы нефтью и продуктами ее переработки наблюдается сильное уменьшение значений вышеперечисленных показателей и чем больше концентрация поллютанта, тем сильнее проявляется его отрицательное воздействие.

Однако, в некоторых исследованиях при небольших дозах загрязнения (от 3 до 6 г/кг почвы) биомасса и длина надземных органов тест-культур повышается по сравнению с контрольными незагрязненными вариантами, аналогичный эффект наблюдался также при исследовании корневой системы растений (Бородулина, Полонский, 2011). Авторы исследований говорят о том, что вероятнее всего, такой эффект связан с повышением содержания азота в почве, который является результатом биологического разрушения нефти.

Стоит отметить, что репродуктивные органы растений могут обладать большей чувствительностью, по сравнению с вегетативными. Можно наблюдать сильное снижение количества зерновой продукции на фоне небольшого уменьшения общего количества биомассы (Назарюк, Калимуллина, 2020).

Одно из самых распространенных явлений, наблюдаемых на загрязненных нефтью почвах – снижение скорости роста и развития растений (Мифтахова, 2006; Hussain et al., 2019). Даже небольшие концентрации нефтепродуктов в почве, от 1%, способны привести к замедлению развития растений пшеницы на 40%, по отношению к растениям на контроле (Седых, Игнатъев, 2002; Мифтахова, 2006; Суслонов, 2012а, 2012б; Сангаджиева и др., 2013). Появление визуальных признаков недостаточного питания растений таких как хлороз, пятнистость, карликовость, искривление стеблей и скручивание листьев, является причиной нарушения нормального протекания биохимических реакций у растений (Мифтахова, 2006; Отчик, 2015).

Изменение естественного ритма развития растений также может проявиться в виде двух крайностей: повторном цветении или, наоборот, полном отсутствии генеративных органов. Это

связано с нарушением физиолого-биохимических процессов формирования структуры пластид и митохондрий – энергетических станций клеток. В итоге происходит деформация фотосинтетического аппарата и, как следствие, уменьшение фотосинтетической активности (Веселовский, Вшивцев, 1988).

Однако, в ряде аналогичных работ было отмечено, что, если концентрация поллютанта не превышает 3 г/кг и в его составе нет токсичных компонентов, угнетение ростовых процессов не происходит (Васильконов, 2009; Бородулина, Полонский, 2009, 2010). Авторы исследования полагают, что нефтепродукты в ряде случаев могут оказывать стимулирующее действие на развитие растений, а поллютант может выступать в роли своеобразного минерального удобрения.

Наряду с биомассой растений, в качестве еще одного показателя фитотестирования используется энергия прорастания семян (Ковалева и др., 2019). Было показано, что при загрязнении почвы нефтепродуктами (6 г/кг) происходит снижение доли проросших семян пшеницы на 2% по сравнению с контрольным вариантом (Бородулина, Полонский, 2009). Аналогичные результаты были получены и при модельных опытах с другими культурами и концентрациями нефтепродуктов (Мифтахова, 2006; Сангаджиева и др., 2013; Ковалева и др., 2019). Механизм подобного воздействия связан с тем, что нефтепродукты обволакивают семена растений, сорбируются на их поверхности и образуют гидрофобную пленку на поверхности, что препятствует поступлению в них воды и воздуха (Issoufi et al., 2006; Kisic et al., 2009; Кольцова и др., 2015).

Нефтепродукты также вызывают значительные изменения биологических и физиологических реакций, протекающих в растениях. Исследования ферментативной активности растений показали, что увеличение активности пероксидаз может служить явным свидетельством протекания процессов детоксикации в растительном организме (Киреева и др., 2009; Nawrot-Paw et al., 2015). Также, для растений, произрастающих в условиях техногенного загрязнения характерно увеличение содержания аскорбиновой кислоты и рибофлавина в листьях (Киреева и др., 2009).

Помимо ферментативной активности оценивается также воздействие нефтяного загрязнения на содержание различных соединений в биомассе растений. Так, например, исследование содержания нитратов и витамина С в корнеплодах редиса, семенах салата и клубнях картофеля показало прямо пропорциональную зависимость между концентрацией поллютанта и содержанием нитратов. А содержание витамина С закономерно падало с увеличением степени загрязнения почвы, что вероятнее всего обусловлено протекторными свойствами данного соединения в условиях нефтяного стресса (Сычев, 2014).

Некоторыми авторами предложено в качестве показателя нестабильного развития растений при влиянии негативных факторов использовать уровень флуктуирующей асимметрии билатеральных признаков (Полонский, Полякова, 2016). В исследованиях на модельных опытах было показано, что при произрастании клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) и мятлика лугового (*Poa pratensis* L.) на нефтезагрязненной почве происходит увеличение значений асимметрии, по интегральной оценке, от 21,2 до 63,7%, в зависимости от срока давности загрязнения (Светлакова и др., 2010).

Интенсивность воздействия нефтезагрязнения на растения зависит также от свойств самих растений и их систематической принадлежности. Отмечено, что разные культуры по-разному реагируют на одинаковое количество нефти в почве (Banks, Schultz, 2005; Мифтахова, 2006; Бородулина, Полонский, 2011; Даурбекова и др., 2012; Hawrot-Paw et al., 2015; Ковалева и др., 2019). У некоторых растений наблюдается в первую очередь уменьшение биомассы надземных и подземных органов, например, у пшеницы яровой (*Triticum vulgare* L.), а у других - энергии прорастания, как в случае с горохом посевным (*Pisum sativum* L.) и фасолью (Мифтахова, 2006; Бородулина, Полонский, 2009; Даурбекова и др., 2012; Кольцова и др., 2014). Однако, помимо свойств самой культуры, влияние оказывают также ряд внешних факторов. Поэтому нередки случаи, когда мы можем наблюдать обратный эффект воздействия нефтепродуктов. Так аналогичный модельный опыт с пшеницей и кукурузой показал большую чувствительность пшеницы на стадии прорастания семян и большую стресс-толерантность корней этого растения к поллютанту по сравнению с кукурузой (Tang et al., 2012).

Реакция растений на действие нефти зависит в том числе и от их стадии развития и вида. Многолетние растения менее чувствительны к наличию поллютанта в почве, по сравнению с однолетними (Banks et al., 2003; Назаров, 2007). Многолетние растения характеризуются наличием спящих почек, которые становятся центром образования новых побегов при повреждении старых почек. Сельскохозяйственные культуры обладают наименьшей устойчивостью к загрязнению нефтепродуктами. Среди сельскохозяйственных культур представители класса двудольных (в частности, растения семейства бобовые и крестоцветные) более толерантны к действию поллютанта, по сравнению с зерновыми культурами (Отчик, 2015).

Как уже было сказано ранее, воздействие нефтепродуктов на растения может быть косвенным, связанным с изменениями условий среды обитания. Одно из действия нефтепродуктов связано с нарушением оптимального режима питания растений макро- и микроэлементами из-за нарушения естественных процессов ионного обмена ППК с почвенным раствором (Kirk et al., 2005). В результате растения, постоянно находящиеся в условиях



недостаточного минерального питания подвержены стрессу и поражению вредителями и болезнями (Mori, Sakurai, 1995; Чупахина, Масленников, 2004).

Изменения свойств почвы под действием нефтепродуктов вызывают бурный рост почвенных патогенных грибов, например, видов рода *Aspergillus* и *Penicillium* (Бакаева, 2004; Киреева и др., 2009). Продуктами жизнедеятельности этих организмов являются физиологически активные соединения, которые могут угнетать рост высших растений (Киреева и др., 2000).

### **1.3 Влияние нефтезагрязнения на ферментативную активность почв**

Все процессы трансформации энергии в почве выполняются с участием ферментов. Они определяют направление и интенсивность всех основных биохимических реакций в почвах. Разложение углеводородных соединений нефти также зависит от активности ферментов, участвующих в окислительно-восстановительных процессах.

Изменение естественного сложения почв под влиянием нефтепродуктов несомненно сказывается на работе почвенных ферментов. Нефть и продукты ее переработки могут оказать воздействие как непосредственно на сами ферменты, так и на основные источники поступления энзимов в почву (Исмаилов, 1988).

Напрямую нефть и сопутствующие ей компоненты могут влиять на структурные элементы ферментов, меняя тем самым их сродство к субстрату. Так, например, ионы меди, могут менять конформацию активного центра таких ферментов как каталаза и уреазы, что вызывает снижение их активности в почве (Коротченко, Кириенко, 2014). Также под воздействием нефтепродуктов ферменты, сорбированные на поверхности почвенных структурных отдельностей, могут переходить в почвенный раствор, что влияет на скорость катализируемых ими реакций (Кочетков, Лазарева, 1999).

Изменение состава микробного сообщества почвы, перестройка его структуры, а также изменение их физиологической активности, вызванное попаданием поллютанта, также оказывает влияние на поведение энзимов в почве. Как уже ранее было сказано, при загрязнении почвы нефтью происходит подавление или почти полное уничтожение нерезистентных к нефти групп микроорганизмов. При этом, в новых условиях среды начинают формироваться сообщества тех штаммов, которые устойчивы к воздействию загрязнителя. К ним относятся азотфиксаторы, микромицеты, углеводородокисляющие микроорганизмы. Подобные перестройки структуры сообществ приводят к трансформациям ферментного пула почвы (Исмаилов, 1988; Бакаева, 2004).

Несмотря на это, такое свойство почв, как буферность, позволяет им самостоятельно регулировать внутренние процессы при изменении внешних условий. К таким внутренним процессам относятся в том числе и ферментативные реакции (Киреева, 1996). Молекулы

эфффектора при взаимодействии с энзимом могут изменить его конформацию. При этом происходит активация или ингибирование катализатора. В этом состоит механизм аллостерической регуляции (Галстян, 1978). Благодаря этим процессам, даже при наступлении неблагоприятных условий для жизнедеятельности микроорганизмов, пул почвенных ферментов может оставаться неизменным, до определенного уровня.

При этом, рядом авторов (Новоселова, Тухватуллина, 2009; Смирнова, Панина, 2015) предлагается использовать активность ферментов в качестве показателя, позволяющего достаточно точно квалифицировать почвенные нарушения при воздействии нефти. Изменения активности ферментов при попадании поллютанта в почву хорошо отражают изменения ее биологических свойств, а также позволяют оценить направление и интенсивность процессов гумусообразования, трансформации соединений азота в почве, минерализации органического вещества и ряда других (Ефремов, 2003; Девятова, 2005). На основании этого показателя, а также комплекса агрохимических и микробиологических индикаторов, можно диагностировать состояние плодородия почв и степень их окультуренности.

### **1.3.1 Ферменты класса оксидоредуктаз - каталаза, дегидрогеназа, пероксидаза, нитритредуктаза, нитратредуктаза**

Ферменты класса оксидоредуктаз являются ключевыми компонентами процессов самовосстановления нефтезагрязненных почв. При изменениях активности этих молекул меняется интенсивность и направление процессов распада и разложения нефти в почве. Особую роль в этом играют такие ферменты как каталаза и дегидрогеназа.

При непосредственном участии дегидрогеназ происходят процессы разложения углеводов в почве, в том числе соединений нефти. Эта группа катализаторов сильно чувствительна к воздействию органических загрязнителей (Киреева и др., 2008). Изменение активности дегидрогеназы является хорошим индикатором наличия загрязнителя в почве, с помощью него можно также оценить интенсивность процессов окисления нефтепродуктов.

В исследованиях загрязненных нефтепродуктами почв показана неоднозначность влияния поллютанта на активность дегидрогеназы. Отмечается ингибирование действия фермента при нефтезагрязнении почв (Киреева и др., 1996; Wyszowska, Kucharski, 2013). Снижение активности данного фермента обусловлено воздействием ароматических соединений в составе загрязнителя (Wyszowska, Kucharski, 2013). В результате, при снижении активности дегидрогеназы может увеличиться соотношение углерода и азота в нефтезагрязненной почве (Новоселова, Тухватуллина, 2009).

Однако, в ряде других исследований обнаружен обратный эффект - активация работы фермента при загрязнении почвы нефтепродуктами (Исмаилов, 1988; Медведева, 2002;

Щемелина, 2008). Стоит отдельно указать, что повышение активности данного фермента происходит только при небольшой степени загрязнения почв нефтепродуктами, до 8-11%. Повышение концентрации загрязнителя вызывает снижение активности фермента (Щемелина, 2008). Исмаиловым Н.М. с соавторами было отмечено, что токсический эффект на работу дегидрогеназы могут оказывать не сами нефтепродукты, а компоненты, образующиеся при их разложении в почве или сопутствующие нефти соединения: сера, сероуглерод, меркаптан и некоторые другие. Кроме того, снижение каталитической активности дегидрогеназы может быть вызвано присутствием тяжелых металлов в составе нефтепродуктов. Они могут замещать цинк и магний, входящие в активный центр многих дегидрогеназ, таким образом изменять конформацию фермента и соответственно снижать его активность (Новоселова, Тухватуллина, 2009).

Каталаза также активно участвует в процессах разложения органических поллютантов в почве. Углеводородоокисляющие микроорганизмы в процессах своей жизнедеятельности активно потребляют молекулярный кислород. А каталаза активизирует процессы разложения пероксида водорода в почве, в результате чего образуется вода и кислород (Киреева, 1996). Отмечено, что показатель каталазной активности можно использовать для диагностики и оценки степени загрязненности почв (Алиев, Гаджиев, 1977).

Активность этого фермента также сильно зависит от комплекса внешних условий, таких как тип почв, степень и давность загрязнения.

При небольшом уровне загрязнения (1-10%) нефтепродукты могут выполнять роль активатора каталазы. Пик активности фермента приходится на 5% загрязнение. Однако уже увеличении концентрации нефтепродуктов в почве до 11-15% (в зависимости от почвенно-климатических условий) наблюдается почти полное ингибирование деятельности каталазы (Щемелина, 2008; Русанов и др., 2012). Предположительно, изменение активности данного фермента связана с наличием в нефти серосодержащих соединений (Киреева, Тишкина, 1990).

Еще один фермент класса оксидредуктаз - пероксидаза. Этот энзим также участвует в процессах самоочищения нефтезагрязненных почв. Помимо этого, он катализирует реакции, участвующие в процессах превращения почвенного органического вещества. В исследованиях на нефтезагрязненных почвах показано сильное подавление действия пероксидазы в первый год после попадания загрязнителя в почву вне зависимости от его концентрации (Русанов и др., 2012). Механизм воздействия связан в первую очередь с изменением водно-воздушного режима в почвах и резком уменьшении количества доступного кислорода. Восстановление активности пероксидазы происходит медленно, спустя год после загрязнения относительно небольшим количеством нефтепродуктов (1-5%). Однако, возобновление деятельности фермента в почве

является хорошим индикатором активного протекания процессов самовосстановления в почве (Киреева, 1996).

### **1.3.2 Ферменты класса гидролаз - протеаза, уреаза, фосфатаза, липаза, амилаза, аспарагиназа, глутаминаза, инвертаза, целлюлаза**

К ферментам класса гидролаз относят в первую очередь протеолитические ферменты, ответственные за расщепление пептидной связи между аминокислотами в белковых молекулах. Так как продуктом реакций с участием протеаз является аммиак, этот подкласс ферментов является незаменимым компонентом метаболизма азота в почве (Хазиев, 1982).

**Активность протеазы** сильно изменяется при попадании в почву органических поллютантов, в том числе нефтепродуктов. Это делает ее достаточно хорошим индикатором наличия неблагоприятных условий для развития почвенной флоры и фауны (Хазиев, 1982; Киреева, 1996).

В некоторых исследованиях (Каримуллин и др., 2016) отмечается повышение каталитической активности протеазы при загрязнении почвы небольшим количеством нефтепродуктов (менее 1%). Однако чаще всего обнаруживается отрицательное воздействие нефти на работу данного фермента, степень ингибирования которого зависит от концентрации загрязнителя и физико-химических свойств почвы (Медведева, 2002; Касаткина, Федорова, 2007; Щемелина, 2008; Новоселова, Тухватуллина, 2009; Неделин и др., 2013; Иванова и др., 2015; Мальгина, 2015).

Проведенные вегетационные опыты позволили установить высокую обратную корреляционную зависимость между активностью протеазы и концентрацией нефтепродуктов в почве. Механизм ингибирования связывают с угнетением пула аммонифицирующих бактерий, которые являются основным источником протеазы в почве. Это происходит в связи с изменением в нефтезагрязненных почвах обстановки в сторону преобладания анаэробных условий, которые неблагоприятны для жизнедеятельности аммонифицирующих бактерий (Неделин и др., 2013; Смирнова, Панина, 2015; Фомина, 2016).

Снижение активности фермента может происходить также под влиянием сопутствующих компонентов нефти. Сильно засоленные растворы неблагоприятно воздействуют на рост и развитие растений, еще одного источника ферментов в почве. Этот эффект особенно сильно сказывается на каталитической активности протеолитических ферментов (Медведева, 2002; Мальгина, 2015).

Различия в физико-химических условиях среды также обуславливают разную степень ингибирования нефтепродуктами действия протеазы. Это обусловлено неоднородностью среды и, соответственно, разной устойчивостью пула микроорганизмов в почве к одинаковой

концентрации нефтепродуктов. Так, если судить по изменению активности протеазы, микробное сообщество темно-серой лесной почвы оказалось менее устойчивым по сравнению с сообществом серой лесной почвы (Каримуллин и др., 2016).

Со временем, в результате адаптации микробного сообщества к новым условиям происходит восстановление работы протеолитических ферментов. Это повышение активности протеазы часто используются исследователями в качестве критерия начала восстановления экологических и хозяйственных функций загрязненных почв (Киреева, 1996; Хазиев, 1982; Медведева, 2002; Касаткина, Федорова, 2007; Новоселова, Тухватуллина, 2009; Неделин и др., 2013; Иванова и др., 2015).

**Уреаза** - еще один гидролитический фермент, изменение поведения которого часто диагностируется при исследовании нефтезагрязненных почв. Активность уреазы является одним из важнейших показателей микробиологической активности почв (Галстян, 1978; Исмаилов, 1988; Колесников, 2005). Этот фермент из группы амидаз, катализирует реакцию гидролиза мочевины, продуктами которой являются аммиак и углекислота. В связи с этим уреаза является незаменимым компонентом процессов трансформации азотсодержащих соединений в почве.

В целом наблюдается ингибирование каталитической активности уреазы, которое усиливается при увеличении концентрации нефти в почве (Исмаилов, 1988; Хабиров и др., 2001; Медведева, 2002; Щемелина, 2008). Это связано со снижением общей микробиологической активности в почве (Неделин и др., 2013). Однако, направление изменения уреазной активности в нефтезагрязненной почве зависит от ряда факторов, таких как фракционный состав загрязнителя, его концентрация и тип почвы.

Разные фракции углеводородов, по-разному влияют на уровень активности уреазы в почве (Исмаилов, 1988; Новоселова, 2008; Новоселова и др., 2014). При загрязнении почвы большим количеством ароматических соединений наблюдается значительное угнетение уреазной активности. Механизм такого воздействия связывают с нарушением естественных процессов поступления аммонийной формы азота в почву при попадании в нее циклических ненасыщенных соединений (Новоселова и др., 2014).

В то же время, при попадании в почву сырой нефти, она может выступать по отношению к уреазе как активатор. Этот эффект может быть связан с повышением содержания аммонийного азота (Новоселова, 2008). Аналогичные данные получены при загрязнении почвы бензином или мазутом - значительное повышение активности данного фермента (Тарасенко, Женин, 2000; Хабиров и др., 2001; Медведева, 2002; Неделин и др., 2013; Коновалова, Корсунова, 2014; Новоселова и др., 2014). Подобное действие указанных фракций нефти связано с процессами их разложения в почве и накоплением большого количества продукта распада - мочевины. А

повышение в среде концентрации субстрата может стимулировать работу фермента (Гилязов, 1999; Неделин и др., 2013; Новоселова, 2008).

Причины повышения урезанной активности в нефтезагрязненной почве остаются не до конца изученными. Ряд авторов (Исмаилов, 1988; Фомина, 2016) связывают ее с увеличением содержания органического углерода в нефтезагрязненной почве, который активизирует процессы азотного обмена. Фоминой Н.В. также отмечено, что при снижении рН почвенного раствора нефтезагрязненных почв могут создаваться благоприятные условия, стимулирующие повышение урезанной активности.

Помимо качественного состава, концентрация загрязнителя также влияет на степень и характер изменения каталитической активности уреазы. При небольших концентрациях нефтепродуктов активность данного фермента повышается. В среднем, пик его активности приходится на содержание нефти в почве на уровне 5-10%. При увеличении концентрации поллютанта наблюдается ингибирование уреазы (Каримуллин и др., 2016; Сулейманов и др., 2007).

При этом, отмечается, что в зависимости от физико-химических и климатических условий среды проявление эффекта ингибирования урезанной активности может происходить при различных дозах загрязнения. Так, на темно-серой лесной почве снижение активности уреазы произошло уже при 5% концентрации нефтепродуктов в почве. В то же время, неблагоприятное воздействие нефти на урезу в серой лесной и в луговое-аллювиальной почве диагностировалось только при 10% загрязнении почвы (Каримуллин и др., 2016; Сулейманов и др., 2007).

Кроме уреазы, в азотном обмене значительная роль отведена другому ферменту класса гидролаз - аспарагиназе. Она отвечает за гидролиз аспарагина с образованием алифатической аминокислоты.

Исследования активности аспарагиназы в нефтезагрязненной почве практически не проводятся. Однако, выявлено, что нефть и нефтепродукты могут значительно угнетать ее активность в почве. Это связано с суммарным уменьшением пула аминокислот при загрязнении почвы нефтью, в то время как в составе связанных и свободных аминокислот азоторганического комплекса почв аспарагин и аспарагиновая кислота играют доминирующую роль (Новоселова, Тухватуллина, 2009; Новоселова и др., 2014).

Фермент фосфатаза также относится к классу гидролитических. От активности данного фермента непосредственно зависит содержание в почве подвижного фосфора. Фосфатаза является очень чувствительной к воздействию нефтепродуктов. При попадании в почву даже небольших концентраций этого поллютанта происходит снижение активности фосфатазы (Киреева и др., 2008). При этом на восстановление работы этого фермента требуется значительно

больше времени, чем для остальных ферментов класса гидролаз (Новоселова, Тухватуллина, 2009).

Нефтепродукты также оказывают сильное воздействие на ферменты углеродного цикла, такие как инвертаза и целлюлаза. Эти катализаторы являются незаменимыми компонентами круговорота биогенных элементов в почве. Показано снижение активности этих энзимов под воздействием поллютантов, что связано с низкой активностью микробного сообщества в почве (Киреева и др., 2001; Хабиров и др., 2001; Медведева, 2002; Девятова и др., 2007).

При пропадании нефтепродуктов в почву отмечается снижение активности фермента целлюлазы (Исмаилов, 1988; Киреева и др., 2001). Однако, некоторые авторы замечают обратный эффект (Щемелина, 2008).

## **1.4 Супрессивность почв**

### **1.4.1 Понятие «супрессивности» почвы**

Супрессивность почвы - способность почвы регулировать паразитическую активность фитопатогенов и фитофагов (Филлипчук и др., 1997; Глинушкин и др., 2016; Bongiorno et al., 2019). Супрессивными называются почвы, в которых патоген не выживает, либо выживает, но не наносит вреда растительности или патоген вызывает некоторые повреждения, но со временем его активность снижается, даже если патоген находится в почве (Cook, Baker, 1983; Chandrashekara et al., 2012). Болезни, вызываемые патогенными микроорганизмами, относятся к числу наиболее распространенных (Oerke, 2006). Чаще всего распространены корневые гнили, вызываемые такими возбудителями как, *Bipolaris sorokiniana*, *Ophiobolus graminis*, *Rhizoctonia cerealis* и другие (Торопова, 2005; Соколов, Дородных, 2009). Помимо этого, патогенные микроорганизмы вызывают другие заболевания, такие как гниение семян, стеблей, листьев, являются причиной гибели всходов и увядания корневой системы (Yadav et al., 2015). Они значительно ограничивают рост и продуктивность растений, снижают урожайность культур (Bongiorno et al., 2019), а также снижают качество получаемой продукции (Соколов, Дородных, 2009; Yadav et al., 2015). Некоторые патогены почв известны тем, что выделяют в среду токсины, опасные в том числе и для людей (Yadav et al., 2015).

До недавнего времени были распространены методы борьбы с болезнями растений, основанные на генетическом управлении устойчивостью сортов сельскохозяйственных культур по отношению к вредителю, а также использовании химических веществ (Yadav et al., 2015). Однако, в последнее время широкое применение пестицидов вызывает беспокойство из-за последствий, которые появились в результате неправильного или неправомерного использования средств борьбы с вредителями, а также из-за развития устойчивости у патогенов в отношении химических средств (Russell, 1995; Hoitink, Boehm, 1999). Поэтому индуцирование и усиление

естественной способности почв подавлять развитие патогенов является наиболее экологически чистым и актуальными приемом по снижению заболеваемости растений и развитию устойчивого земледелия (Tamm, 2001; Yadav et al., 2015).

Почвы обладают естественной способностью подавлять активность подобного рода микроорганизмов до определенной степени. Супрессивность почвы является важной частью качества почвы и ее здоровья (Janvier et al., 2007; Соколов и др., 2009, 2010). Здоровье почвы - способность почвы функционировать в качестве компонента экосистемы, поддерживать биопродуктивность, качество воды и воздуха, а также обеспечивать безопасную среду для растений, животных и человека (Doran et al., 1996; Doran, Zeiss, 2000). Поддержание здоровья почв или их оздоровление - актуальный, повсеместно распространенный вопрос, связанный с увеличением количества деградированных земель (Doran, Zeiss, 2000; Соколов, Дородных, 2009).

Оценка здоровья почв необходима для получения информации об устойчивости применяемых элементов агротехнологий, для оценки производительности агроэкосистемы, а также для оценки того, как почва и биота обеспечивает экосистемные функции (Doran, Zeiss, 2000; Соколов, Дородных, 2009). Для этого используется комплекс различных показателей, в число которых входит оценка супрессивности почв.

#### **1.4.2 Виды супрессивности почвы, используемые в оценке этого параметра**

Было показано, что почвенные микроорганизмы являются ключевым фактором супрессивности почв (Wiseman et al. 1996; Knudsen et al., 2002). В основе выделения разных видов супрессивности лежит разница в механизмах подавления.

Различают общую и специфическую супрессивность почв (Филлипчук, Соколов, Павлова, 1997; Yadav et al., 2015; Schlatter et al., 2017). **Общая** или естественная супрессивность связана с активностью, общей биомассой и разнообразием почвенных микроорганизмов и определяется физическими и химическими свойствами почвы (Yadav et al., 2015; Schlatter et al., 2017). Она основана на явлении межвидовой борьбы ризосферных и почвенных непатогенных организмов с патогенами (Weller et al., 2002). Это выражается в конкуренции за субстрат (van Os, van Ginkel, 2001; Соколов, Дородных, 2009; Chandrashekara et al., 2012), в анабиозе, паразитизме и хищничестве (Hoitink et al., 1977; Филлипчук, Соколов, Павлова, 1997; Haas, Défago, 2005; Соколов, Дородных, 2009; Соколов и др., 2009). Также описаны механизмы подавления с помощью стимуляции защиты растения в результате образования симбиоза с микоризой грибов. Помимо этого, характерно наличие косвенного влияния повышенной активности и биоразнообразия почвенных микроорганизмов, связанного с улучшением питания растений в ризосфере (Yadav et al., 2015).



Общая супрессивность проявляется в отношении большинства, если не всех патогенов и включает в себя деятельность многих обитающих в почве организмов (Филлипчук, Соколов, Павлова, 1997; Chandrashekara et al., 2012; Schlatter et al., 2017). Для общего подавления патогенов в почве могут быть задействованы такие микроорганизмы как *Trichoderma spp.* (Wiseman et al., 1996), *Pseudomonas spp.* (Mazzola, Gu, 2002), *Microbacteria spp.* (Barnett et al., 2006), *Penicillium spp.* (Fravel et al. 2003; Sabuquillo et al., 2005), *Actinomycetes spp.* (Mazzola et al., 2001).

**Специфическая** почвенная супрессивность является результатом наличия специфических микробных таксонов, которые действуют как антагонисты, выделяя в среду такие продукты жизнедеятельности как ферменты, антибиотики и другие биологически активные вещества (Соколов, Дородных, 2009; Chandrashekara et al., 2012; Yadav et al., 2015; Bongiorno et al., 2019). Деятельность антагонистической микробиоты способна значительно повысить сопротивляемость растений к действию фитопатогенов. Специфическая супрессивность сильнее проявляется в ризосфере растений (Торопова и др., 2016, 2020), что связано с выделением ими метаболитов, стимулирующих деятельность антагонистов (Соколов, Дородных, 2009).

Очевидно, что большинство почв обладают как общей, так и специфической супрессивностью, которая зависит от большого числа факторов (Weller et al., 2002). Механизмы и интенсивность почвенной супрессивности зависят от конкретного патогена. Для большинства патогенов механизмы этого процесса неизвестны (Janvier et al., 2007).

Рядом авторов (Hornby, 1983; Соколов, Дородных, 2009; Yadav et al., 2015) выделяется также **индуцированная** супрессивность почв. Под данным понятием подразумеваются почвы, которые в результате применения различных приемов, приобретают способность подавлять активность патогенов. Чаще всего, в таком случае почва становится супрессивной лишь по отношению к какой-то конкретной группе патогенов или к конкретной паре хозяин-патоген.

Существующие приемы, позволяющие индуцировать супрессивность почв, основаны на внесении микроорганизмов-супрессоров и обработке семян биопрепаратами (Hornby, 1983; Bailey, Lazarovits, 2003). Особо эффективны эти приемы в отношении конкретных патогенов. В качестве супрессоров часто выступают такие ризобактерии, как *Pseudomonas fluorescens* или *Pseudomonas putida*, а также микромицеты *Pythium oligandrum* и др. (Соколов, Дородных, 2009).

Помимо этого, существенную роль в увеличении супрессивности почвы играют агротехнические приемы, например выбор оптимального предшественника в севообороте (Cook et al., 2002), применение удобрений, выбор устойчивого к патогенам сорта (Соколов, Терехов, 1995; Bailey, Lazarovits, 2003; Торопова, 2005; Чулкина и др., 2007; Соколов, Дородных, 2009; Торопова и др., 2017). Это подтверждается рядом исследований в отношении супрессивности почвы. Так, по результатам длительных полевых опытов в Южной Австралии было отмечено,

что севообороты зерновых обязательно должны включать бобовые культуры, чтобы снизить воздействие корневой гнили (Chandrashekara et al., 2012). Аналогичные результаты были получены при обследовании почв в севообороте злаковых культур в Западной и Восточной Сибири (Чулкина и др., 2007). Супрессивность почв снижается при длительном выращивании монокультуры (Sánchez-Moreno, Ferris, 2007; Соколов, Дородных, 2009).

Сельскохозяйственные обработки могут влиять на супрессивность почв как в краткосрочной, так и в долгосрочной перспективе путем изменения физических, биологических и химических свойств (Торопова, 2005; Sánchez-Moreno, Ferris, 2007; Соколов и др., 2009). В целом, все агрохимические приемы, оказывающие влияние на микробиоту, способны изменять супрессивность почв (Janvier et al. 2007, Yadav et al., 2015). При этом, методы ведения сельского хозяйства, обеспечивающие поддержание и укрепление супрессирующей способности почвы, также способствуют росту растений и увеличению количества и качества сельскохозяйственной продукции, без дополнительных затрат и воздействия на окружающую среду (van Elsas et al., 2002; Martin, 2003; Govaerts et al., 2007).

Положительное влияние на супрессивность почв оказывает также внесение органических удобрений (Cotxarrera et al., 2002; Tilston et al., 2002; Widmer et al., 2002; Diab et al., 2003; Stone et al., 2003; Mazzola, 2004). Применение растительных и животных остатков влияет на количество и качество органического вещества в почве. Это в свою очередь изменяет активность микроорганизмов-супрессоров и жизнедеятельность патогенов. Отмечен такой механизм влияния растительных остатков на подавление патогенов: когда остатки закапываются в почву, патогенные микроорганизмы вытесняются из своей ниши в более глубокие слои почвы, где их способность к выживанию значительно снижается (Bailey, Lazarovits, 2003). Внесение органических удобрений оказывает значительное улучшение фитосанитарного состояния почв (Чулкина и др., 2007). Помимо этого, эффективность применяемых органических удобрений может быть улучшена путем инокуляции компостов специфическими штаммами микроорганизмов-антагонистов (Krause et al., 2001; Tilston et al., 2002; Noble, Coventry, 2005; Janvier et al., 2007).

Остается неизученным, до какой степени супрессивная способность почв может быть восстановлена или индуцирована с помощью агрофизических и агрохимических приемов или путем внедрения микробных сообществ в почву (Yadav et al., 2015). Однако, существующие наблюдения и исследования говорят о том, что существует возможность эффективно и что немаловажно, экологически безопасно для окружающей среды, усилить подавляющую способность автохтонного природного микробного сообщества путем своевременного применения существующих агрономических методов (Mazzola, Gu, 2002; Pankhurst et al., 2002).

Попадание тяжелых металлов, нефтепродуктов, пестицидов также изменяет среду обитания микроорганизмов и влияет на подавление почвой патогенов. Однако на данный момент в зарубежной и отечественной литературе нет исследований влияния поллютантов на изменение супрессивности почвы.

### 1.4.3. Методы определения почвенной супрессивности

Определение почвенной супрессивности дает возможность оценить качество и здоровье почвы, а также дать рекомендации по проведению мероприятий для улучшения фитосанитарного состояния почв.

В большинстве случаев почвенная супрессивность определяется косвенным образом, с помощью микробиологических показателей: определение численности общего пула микроорганизмов в почве (Семенов, Семенова, 2016; Торопова и др., 2016а, 2017), определение биоразнообразия (Соколов и др., 2009), определение численности микроорганизмов-супрессоров (Муромцев и др., 1976; Соколов и др., 2009), определение эмиссии CO<sub>2</sub> (Семенов и др., 2011; Торопова и др., 2017), базального, удельного и субстратиндуцированного дыхания (Марченко и др., 2008; Соколов и др., 2009). Показатели такого рода позволяют охарактеризовать биотическую супрессивность, а не общую, которая обусловлена также физико-химическими свойствами почв (Торопова и др., 2016а).

**Определение супрессивности почв с использованием коэффициентов паразитической активности возбудителя и супрессивной активности почв** (Торопова и др., 2016а; 2016б). В данной методике оценивается степень поражения растений с помощью индекса развития болезни (ИРБ), а также определяется степень зараженности подземных органов тест-культур патогенными организмами.

Индекс развития болезни (интенсивность развития болезни, степень развития болезни, индекс болезни, развитие болезни) вычисляется по формуле (1) (Шамрай, Глущенко, 2006):

$$R = \frac{(a \times b)}{N}, \quad (1)$$

где

*R* - развитие болезни, %;

*a* - пораженность растений, %;

*b* - число растений, имеющих соответствующий процент пораженности, шт.;

*N* - общее число учтенных растений, шт.

Степень супрессивности почв оценивается по коэффициенту супрессирующей активности. Для этого вычисляется коэффициент паразитической активности возбудителя (КПАВ) по формуле (2):

$$КПВ = \frac{ИРБ}{r}, \quad (2)$$

где

*КПВ* - коэффициент паразитической активности возбудителя, выраженный в относительных единицах;

*ИРБ* - индекс развития болезни, %;

*r* - плотность инфекционных структур возбудителя, экз./г почвы.

Коэффициент супрессирующей активности (КСА) вычисляется из коэффициента паразитической активности (КПВ) возбудителя по следующей формуле (3):

$$КСА = \frac{1}{КПВ}. \quad (3)$$

По результатам обследования почвы можно подразделить на следующие категории: абсолютно супрессивные почвы с КПВ = 0; высокосупрессивные с КПВ = 0,1-0,2 и КСА = 5-10; среднесупрессивные или толерантные с КПВ = 0,3 - 0,9 и КСА = 1,1-3; кондуктивные (больные) с КПВ ≥ 1.0 и КСА ≤ 1.0 (Торопова и др., 2016а, 2016б).

По данной методике проведено большое количество исследований супрессивности почв в Западной и Восточной Сибири (Торопова, 2005; Чулкина и др., 2007, 2009; Соколов и др., 2009; Торопова и др., 2016а, 2016б, 2020).

**Определение общей супрессивности почвы по ограничению роста фитопатогенов** (Патент № 2568913; Торопова и др., 2016а). Запатентованный метод определения супрессивности основан на агаризации почвенного образца в чашке Петри с последующим размещением на ней агаровых блоков чистой культуры тест объектов. Сравнение ведется с агаризованной средой без почвы. Затем по истечению 7-10 дней подсчитывают количество развивающихся колоний патогена на блоках, а также размеры этих колоний. Показатель супрессивности вычисляют по формуле (4):

$$C = \frac{(N_1 + (N_2 \times \frac{d}{D}) \times 100)}{N}, \quad (4)$$

где

*C* - супрессивность почвы, %;

*N*<sub>1</sub> - число блоков без признака роста тест-объекта;

*N*<sub>2</sub> - число блоков тест-объекта с развивающимися колониями;

*d* - средний диаметр колоний тест-объекта, см;

*D* - средний диаметр контрольных колоний, см;

*N* - общее число блоков тест-объекта в опыте;

100 - коэффициент пересчета в %.

Значения супрессивности лежат в пределах от 0 до 100%, где 0% - несупрессивная почва, а 100% - супрессивная.

По мнению авторов, данный метод обладает рядом преимуществ. Он может использоваться для всех видов патогенов, оценивает общую супрессивность почв, быстр и прост в исполнении и интерпретации результатов. Данная методика была апробирована авторами в ряде исследований (Торопова и др., 2016а, 2016б, 2017).

Определение супрессивности по изменению массы побегов высших растений, выращенных на почве, предварительно загрязненной фитопатогенами (Maurhofer, 1992; Erhart et al., 1999; Tamm et al., 2010).

В основе данной методики лежит процедура фитотестирования, предполагающая использование растительных тест-объектов для определения наличия негативного влияния патогена. Фитотестирование в рамках разработанной авторами методики проводится в лабораторных условиях путем проращивания семян растений непосредственно в почве.

Суть методики заключается в проращивании семян тест-культур в чашках Петри, содержащих предварительно инокулированные фитопатогеном образцы почвы. Учет супрессивности проводится путем взвешивания проросших семян растений через 7 дней после их посева. Супрессирующий эффект выражается в индексе здоровья почвы (soil health index (SHI)), который рассчитывается по следующей формуле (5):

$$SHI = 100 \times \frac{W_n}{W_a}, \quad (5)$$

где

$W_n$  - масса побегов в сосудах, инокулированных фитопатогеном,

$W_a$  - средняя масса побегов в контрольных сосудах.

Самая распространенная модельная система предполагает использование *Pythium ultimum* в качестве патогена и семена *Lepidium sativum* в качестве тест-культуры (Erhart et al., 1999; Thuerig et al., 2009; Tamm et al., 2010; Bongiorno et al., 2019). Предварительно, перед началом исследования производится приготовление субстрата, содержащего патоген *Pythium ultimum* в определённой концентрации. Для этого чистую культуру патогена инкубируют на среде из проса в течении 10 дней при 20°C. После 10 дней инкубации мицелий вместе с семенами проса измельчают, гомогенизируют и с помощью стерильного песка создают несколько различных доз инокулянта. Для *Pythium ultimum* предлагается использовать 5-6 доз концентраций активного патогена: 0; 0,25; 1; 2; 4; 16; 64 г/л почвы. Субстрат, содержащий патоген, после этого помещают в пластиковые контейнеры и инкубируют при температуре 20°C в темноте в течении 2 дней.

Отобранные образцы почвы стерилизуют и помещают в сосуды объемом 95 мл и диаметром 6 см. Затем на почву высевают семена *Lepidium sativum* по 0,5 г в каждый сосуд. Семена

выращиваются при температуре 23°C днем и 18°C ночью с продолжительностью дня 16 часов в течение 7 дней. В первые два дня сосуды накрывают прозрачными пластиковыми пакетами, чтобы обеспечить 100% относительную влажность для прорастания.

Ряд авторов, использующих данную методику для определения супрессивности почвы, предлагает использовать другие тест-системы, например *Fusarium culmorum* - *Triticum aestivum* L. (Tilston et al., 2002) или *Rhizoctonia solani* - *Beta vulgaris* L. (Postma et al., 2008). В зависимости от используемых объектов исследования методика модифицируется, изменяются концентрации патогена в почве, время и условия инкубации. Это производится для того, чтобы учесть оптимумы роста и развития разных патогенов и тест-культур.

Указанная методика получила широкое распространение при исследовании механизмов и природы супрессивности почв (Maurhofer, 1992; Thuerig et al., 2009), для сравнения различных систем земледелия и способов управления плодородием почвы (Wiseman et al., 1996; Erhart et al., 1999; Pankhurst et al., 2002; van Elsas et al., 2002; Scheuerell, Mahaffee, 2004; Postma et al., 2008; Tamm et al., 2010; Pane et al., 2011).

#### 1.4.4. Тест-объекты, используемые при определении супрессивности почвы

По результатам анализа литературных источников можно выделить наиболее встречающиеся тест-объекты, которые используются для оценки супрессивности почв.

##### *Патогены, используемые при определении супрессивности почвы*

Для зарубежных исследователей характерно использование представителей родов *Pythium* spp. и *Rhizoctonia* spp. (Erhart et al., 1999; Postma et al., 2008; Cook, 2014; Yadav et al., 2015). По мнению ряда авторов (Miller, 2002; Weller et al., 2002; Borrero et al., 2004), они представляют наибольший интерес для исследователей из-за своей распространенности в почве и из-за того, что продуцируемые ими микотоксины опасны для человека (табл. 1).

**Таблица 1.** Фитопатогены, используемые при определении супрессивности почвы

Патоген	Ссылка на исследование
<i>Rhizoctonia</i> spp.	Wiseman et al., 1996; Pankhurst et al., 2002; Postma et al., 2008; Thuerig et al., 2009; Tamm et al., 2010; Pane et al., 2011
<i>Pythium</i> spp.	Maurhofer, 1992; Erhart et al., 1999; van Os, van Ginkel, 2001; Ishimoto et al., 2004; Scheuerell, Mahaffee, 2004; Thuerig et al., 2009; Tamm et al., 2010; Bongiorno et al., 2019
<i>Fusarium</i> spp.	Tilston et al., 2002; Sabuquillo et al., 2005; Pane et al., 2011
<i>Hyaloperonospora parasitica</i>	Thuerig et al., 2009; Tamm et al., 2010;
<i>Phytophthora infestans</i>	Thuerig et al., 2009; Tamm et al., 2010;

В исследованиях на территории нашей страны чаще всего используется несовершенный гриб *Bipolaris sorokiniana*. Он представляет наибольший интерес для зернопроизводящих регионов, так как является возбудителем корневой гнили, поражает более чем 60 видов злаковых культур и уничтожает большие площади посевов зерновых (Oerke, 2006; Чулкина и др., 2009; Торопова и др., 2016а, 2017).

В качестве **тест-культуры** для оценивания активности патогена в почве чаще всего используют семена кресс-салата (*Lepidium sativum* L.) (табл. 2). Это наиболее простой и удобный объект для исследования (Tamm, 2001; Pane et al., 2011). Для исследования супрессивности почв зернопроизводящих регионов целесообразно использовать семена пшеницы (*Triticum* L.). Нередко также использование семян томата (*Lycopersicon esculentum* L.) и огурца (*Cucumis sativus* L.), как культур, чувствительных к наличию в почве патогенов (Tamm et al., 2010).

**Таблица 2.** Тест-культуры, используемые при определении супрессивности почвы

Тест-культура	Ссылка на исследование
<i>Lepidium sativum</i> L.	Maurhofer, 1992; Erhart et al., 1999; Ishimoto et al., 2004; Hunter et al., 2006; Thuerig et al., 2009; Tamm et al., 2010; Pane et al., 2011; Bongiorno et al., 2019
<i>Triticum</i> L.	Wiseman et al., 1996; Pankhurst et al., 2002; Tilston et al., 2002; Weller et al. 2002; Соколов и др., 2009; Торопова и др., 2016а, 2016б, 2020
<i>Raphanus sativus</i> L.	Nelson, Hoitink, 1983; Postma et al., 2008
<i>Pisum sativum</i> L.	Tilston et al., 2002
<i>Brassica rapa</i> L.	Tilston et al., 2002
<i>Brassica napus</i> L.	Mazzola et al., 2001; Cohen et al., 2005
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Thuerig et al., 2009; Tamm et al., 2010
<i>Lycopersicon esculentum</i> L.	Borrero et al., 2004; Sabuquillo et al., 2005; Thuerig et al., 2009; Tamm et al., 2010
<i>Beta vulgaris</i> L.	Postma et al., 2008; He et al., 2010
<i>Cucumis sativus</i> L.	Chen et al., 1987; Maurhofer, 1992; Scheuerell, Mahaffee, 2004; Pane et al., 2011

### 1.5 Показатели, использующиеся при исследовании нефтезагрязненных почв

Набор показателей, используемых в исследованиях нефтезагрязненных почв, как правило, определяется целью исследования. Многие работы направлены на изучение влияния нефтезагрязнения на свойства почв, на раскрытие механизмов воздействия поллютанта на естественные процессы, протекающие в почве (Пиковский, 1988, 1993; Исмаилов, 1988; Nie et al., 2009). Другие исследования сосредоточены на установлении механизмов и последствий воздействия нефтезагрязнения на живые организмы, в частности растения и почвенные

микроорганизмы (Алиев, Гаджиев, 1977; Киреева, 1996; Габбасова, Абдрахманов, 1997; Бакаева, 2004; Сангаджиева и др., 2013; Гранина, Напрасникова, 2014).

Исследования проводятся также для фактической оценки степени и характера загрязнения с целью определения уровня опасности для окружающей среды и человека (Веселовский, Вшивцев, 1988; Марченко и др., 2008; Tang et al., 2011; Vázquez-Luna, 2015; Арзамазова и др., 2016; Shen et al., 2016; Ковалева и др., 2019). Подобная оценка может использоваться в качестве норматива для проведения рекультивационных мероприятий. Также исследования направлены на разработку методов очистки и восстановления почв, определения эффективности используемых приемов рекультивации (Киреева и др., 1996; Гилязов, 1999; Васильконов, 2009; Wang et al., 2008, 2011; Soleimani et al., 2010; Varjani, 2017).

Во всех перечисленных исследованиях использованы различные показатели для того, чтобы всесторонне изучить сложную систему, которую представляют собой нефтезагрязненные почвы и использовать для оценки и мониторинга состояния нефтезагрязненных почв (приложение 1). Тем не менее, исследования, целью которых была бы оценка применимости тех или иных показателей, их эффективности в оценке и характеристике почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, остаются достаточно редкими (Трофимов и др., 2023).

В последнее время, с увеличением количества загрязненных и деградированных земель, остро возник вопрос по восстановлению нарушенных территорий. Разрабатываются методики и приемы, которые также требуют оценки их эффективности: достигла ли система состояния, достаточного для окончания работ по рекультивации нефтезагрязненных почв. Для подобных исследований требуется анализ не только фактического состояния системы, но и представление о комплексной характеристике системы используемыми показателями.

Самый распространенный показатель, с помощью которого характеризуется нефтезагрязненная почва - содержание нефтепродуктов. Данные о количестве нефтепродуктов в почве измеряются однократно или в динамике, в зависимости от поставленной цели исследования.

Помимо этого, чаще всего используются несколько групп показателей, характеризующих состояние почв - ее химические, физические и биологические свойства. Если исследуется система, предполагающая использование растений для оценки и характеристики нефтезагрязненной почвы, то в таком случае используется набор показателей, характеризующих состояние растительного организма.

Химические и физические свойства почв описываются следующими показателями:

- химические: содержание гумуса и органического вещества, содержание азота (общий, аммонийный, нитратный, легко-, средне- и трудногидролизуемый), содержание подвижного



фосфора и обменного калия, сумма обменных оснований, содержание обменного натрия, рН водной и солевой вытяжки, емкость катионного обмена;

- физические: влажность, влагоемкость, объемный вес, удельный вес частиц, коэффициент пористости, пористость, гигроскопическая влага.

Химические свойства почв анализируются практически в каждом исследовании и наиболее часто из них используются те, что характеризуют плодородие почвы. Физические свойства, в целом, оцениваются намного реже и особенно мало встречаются в исследованиях с использованием растений в качестве тест-системы. Наиболее часто данные показатели определяются однократно, в таком случае исследователь получает значения показателя для сравнения загрязненных и контрольных образцов, либо дважды - в начале и по окончании эксперимента, например, при загрязнении почвы и контроле рекультивации.

Характеристика биологических свойств почвы производится чаще, так как считается, что показатели данной группы являются хорошим индикатором при диагностике уровней загрязнения и степени его токсичности (Воробейчик и др., 1994; Shen et al, 2016). К подобным показателям можно отнести активность почвенных ферментов (протеаза, инвертаза, каталаза, уреаза, целлюлаза, дегидрогеназа, липаза), дыхание почвы, численность различных групп микроорганизмов, качественный состав микробиоты, численность аэробных микроорганизмов и видовой состав микромицетов.

Данные показатели чаще всего определяются в динамике. Ряд авторов (Девятова, 2005; Новоселова, 2008; Смирнова, Панина, 2015) рекомендует использовать их при комплексном биологическом мониторинге, который позволяет точно квалифицировать почвенные нарушения при воздействии нефти. Эти показатели считаются наиболее информативными и чувствительными к воздействию поллютанта. Наибольшее предпочтение отдается определению дыхательной и ферментативной активности. Активность ферментов в нефтезагрязненной почве является наиболее чувствительным и информативным показателем в биологическом мониторинге и при диагностике уровня нефтяного загрязнения почвы (Воробейчик и др., 1994; Shen et al, 2016). Исследование активности ферментов в почве позволяет определить степень ее загрязнения нефтепродуктами и оценить способность к восстановлению (Хазиев, 1982; Исмаилов, 1988; Киреева и др., 2001; Сулейманов и др., 2005; Девятова, 2005, 2006; Новоселова, 2008; Смирнова, Панина, 2015; Сергатенко и др., 2022). Анализ ферментативной активности почв помогает также оценить эффективность различных методов очистки почвы от нефти и нефтепродуктов.

Для оценки и мониторинга состояния нефтезагрязненных почв измеряют активность нескольких видов почвенных ферментов из класса оксидоредуктаз (пероксидаза, каталаза,

полифенолоксидаза) и гидролаз (фосфатаза, инвертаза) (приложение 1). К этому набору рекомендуется добавить также определение активности дегидрогеназы и целлюлозоразлагающей способности почв (Девятова, 2005). Интервалы, через которые происходят определение этих показателей выбираются самими исследователями. Чаще всего показатели измеряются на 3, 30 и 90 сутки с начала эксперимента. Однако встречаются и другие интервалы.

Оценка состояния растений, произрастающих на нефтезагрязненной почве, производится с помощью показателей фитотестирования (всхожесть, энергия и дружность прорастания семян, выживаемость растений, биомасса, высота растений, длина и площадь листовых пластинок, длина корней, количество боковых корней, количество зерен в колосе и длина колоса), а также с помощью геоботанических описаний (приложение 1).

В научных исследованиях, проводимых на нефтезагрязненных почвах, большое внимание уделяется исследованию морфо-биометрических показателей растительности. Фитодиагностика считается достаточно наглядным и чувствительным методом, позволяющим оценить экологическое состояние и устойчивость экосистемы к нефтезагрязнению (Banks, Schultz, 2005; Девятова, 2006; Martí, et al., 2009; Gürtler, et al., 2018). Оценка качественного состава произрастающих на нефтезагрязненных почвах растений проводится не так часто. При этом значительное место в данных исследованиях занимает оценка динамики таких соединений, как аскорбиновая кислота или пигменты (Чупахина, Масленников, 2004; Мехоношина, 2017), а анализ изменения содержания макроэлементов проводится еще реже (Назарюк, Калимуллина, 2020).

Рогозиной Е.А. (2006) представляется целесообразным использование следующего комплекса показателей для проведения нефтеэкологического мониторинга почв: основные физические свойства почв (рН, Eh, температура, влажность, плотность, пористость), содержание органического углерода, нерастворимого остатка, гумуса, калия, фосфора, азота, тяжелых металлов, радиоактивных элементов и продуктов их распада, различные физиологические группы почвенных микроорганизмов, газовая составляющая почв. Эти параметры, по мнению автора исследования, являются базовыми и позволяют в достаточной мере оценить степень антропогенной нагрузки на почвенные среды, а также позволяют разработать оптимальные методики для проведения рекультивационных работ.

Девятова Т.А. (2005) считает использование такого большого количества показателей избыточным и трудоемким. По мнению автора, в первую очередь необходимо определить наиболее отзывчивые и объективные параметры нефтезагрязненных почв. К таким относятся показатели, характеризующие биологические свойства почв: ферментативная активность почв, в частности, активность каталазы, а также интегральный показатель биологического состояния

почв (ИБПС), вычисленный с использованием чувствительных к нефтезагрязнению биологических показателей. При расчете ИБПС максимальное значение каждого из показателей в выборке принимается за 100% и по отношению к нему рассчитывается значение данного показателя в относительных процентах в остальных образцах по формуле (6):

$$B_1 = \frac{B_x}{B_{max}} \times 100\%, \quad (6)$$

где

$B_1$  – относительный балл показателя;

$B_x$  – фактическое значение показателя;

$B_{max}$  – максимальное значение показателя.

Затем оценивается интегральный показатель биологической активности по формуле (7):

$$\text{ИБПС} = \frac{B_{cp}}{B_{cp\ max}} \times 100\%, \quad (7)$$

где

$B_{cp}$  – средний оценочный балл всех показателей,

$B_{cp} = (B_1 + B_2 + B_3 \dots + B_n)/N$ ,  $N$  – число показателей.

$B_{cp\ max}$  – максимальный оценочный балл всех показателей.

## ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Объекты исследований

В качестве объектов исследования были выбраны пахотные горизонты почв 2 типов: торфяная олиготрофная и чернозем типичный.

Образцы *олиготрофной торфяной почвы*, загрязненной и незагрязненной нефтью были отобраны Среднем Приобье, на территории Ханты-Мансийского автономного округа. Почвы исследованного участка относятся к типу болотных почв по классификации 1977 г. (Классификация и диагностика почв СССР, 1977), к типу торфяных олиготрофных, отделу торфяных почв по классификации 2004 г. (Классификация и диагностика почв России, 2004); Ombric Distric Fibric Histosol по WRB-2014 г. (World Reference Base for Soil Resources, 2014). Исследуемая олиготрофная почва была загрязнена в результате техногенной аварии в природной экосистеме, давность загрязнения составила около 1 года. Образцы отбирались в соответствии с ГОСТ 17.4.3.01-2017 с территорий, на которых уже был проведен технический этап рекультивации.

Образцы незагрязненного *чернозема типичного* были отобраны из верхней части гумусово-аккумулятивного горизонта типичного чернозема (Haplic Chernozem (Loamic, Pachic)) в Воронежской области, Таловском районе из старовозрастной лесополосы №40 Каменной степи,

длительное время не находящейся в сельскохозяйственном использовании. Отбор образцов происходил по ГОСТ 17.4.3.01-2017. Для загрязнения основного объема почвы в соответствии со схемой эксперимента использовался предварительно искусственно загрязненный образец, расчетное количество которого добавлялось в соответствующий вариант с последующим многократным тщательным перемешиванием. Для этого на тонкий слой почвы, распределенный на ровной поверхности, нефть вносилась капельным способом, гарантирующим равномерное внесение поллютанта. Нефтезагрязненный образец был подготовлен за 3 месяца до проведения вегетационного опыта, для того чтобы наиболее легкие и токсичные для растений и микроорганизмов фракции нефти успели улечься. Перед закладкой эксперимента в нем было определено содержание нефтепродуктов и рассчитано количество данного образца, которое добавлялось к незагрязненной почве для создания нужного варианта.

Образцы олиготрофной торфяной почвы к моменту закладки опыта были предварительно произвесткованы по 0,5 Н<sub>г</sub> и по степени кислотности относились к категории «близкие к нейтральным» (табл. 3). Уровень обеспеченности почвы подвижным фосфором характеризовался как низкий, а обменным калием как очень низкий, в соответствии с «Группировкой торфяных почв по обеспеченности элементами минерального питания растений», предложенной Институтом почвоведения и агрохимии НАН Беларуси (приложение 2).

**Таблица 3.** Агрохимическая характеристика незагрязненных почв

Почва	Гумус, %	pH <sub>KCl</sub>	H <sub>г</sub> , моль/100 г	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/кг	K <sub>2</sub> O, мг/кг
Торфяная олиготрофная	-	5,7 ± 0,3	124,6	113 ± 12	198 ± 16
Чернозем типичный	8,1 ± 0,3	6,4 ± 0,1	-	27 ± 3	11 ± 2

Чернозем типичный характеризовался как нейтральный по степени кислотности, относился к низкому уровню обеспеченности растений по содержанию подвижного фосфора и обменного калия и обладал высоким содержанием гумуса (табл. 3).

В качестве тест-объекта была **использована рекультивационная смесь злаковых трав** следующего состава:

- Тимофеевка луговая (*Phleum pratense* L.) – 40%;
- Кострец безостый (*Bromopsis inermis* (Leyss.) Holub.) – 30 %;
- Овсяница луговая (*Festuca pratensis* Huds.) – 30%.

Данная травосмесь имеет широкое практическое применение при проведении биологического этапа рекультивации в различных почвенно-климатических условиях.

Формирование оптимальных почвенных условий для роста растений и деятельности автохтонных микроорганизмов в почве производилось внесением **комплексных удобрений**, содержащих основные элементы питания (NPK). Создавались разные условия питания за счет использования разных форм азотных удобрений (табл. 4), так как азот чаще всего выступает лимитирующим фактором для жизнедеятельности растений и микроорганизмов, особенно в условиях техногенного загрязнения такими органическими поллютантами, как нефть и нефтепродукты (Назаров, 2007; Смирнова, Панина, 2015; Гальцова, 2019). Дополнительное внесение фосфорных и калийных удобрений было необходимо для создания запланированного уровня обеспеченности.

**Таблица 4.** Применяемые удобрения

Условное обозначение варианта опыта	Используемое удобрение		
	Азотное	Фосфорное	Калийное
НаммРК	Аммоний фосфорнокислый двузамещенный	Суперфосфат простой	Хлорид калия
НнитрРК	Нитрат калия		
НаммНнитрРК	Нитрат аммония		

Для расчета доз удобрений, вносимых в исследуемые почвы, использовались соответствующие группировки почв по обеспеченности растений элементами минерального питания (приложения 2, 3, 4, 5).

Для олиготрофной торфяной почвы с помощью удобрений создавался повышенный уровень обеспеченности растений элементами минерального питания, для чернозема типичного - средний (табл. 5).

Использование более высокой дозы удобрений в исследованиях, проводимых на торфяной олиготрофной почве, обусловлено особенностями питания растений на данном типе почв: высокой миграцией питательных элементов, замедленной скоростью микробиологической трансформации.

**Таблица 5.** Дозы удобрений

Почва	Уровень обеспеченности	Доза удобрений, мг д.в./кг почвы
Олиготрофная торфяная	Повышенный	N <sub>400</sub> P <sub>500</sub> K <sub>650</sub>
Чернозем типичный	Средний	N <sub>30</sub> P <sub>75</sub> K <sub>60</sub>

При внесении фосфорнокислого аммония и нитрата калия как источника азота учитывалось поступление с ними фосфора и калия при расчёте соответствующих доз фосфорных и калийных удобрений.

## 2.2 Описания экспериментов

При проведении исследования была заложена серия вегетационных опытов на базе вегетационного домика факультета почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова.

Предварительно были разработаны схемы опыта для двух типов почв, реализованные в трехкратной повторности (табл. 6). Опыты закладывались три вегетационных года подряд с 2020 по 2022 года.

**Таблица 6.** Схема опыта

Доза загрязнения	Форма удобрения	Условное обозначение варианта опыта
<b>Почва - олиготрофная торфяная</b>		
Контроль незагрязненный (КН)	Контроль без удобрений	КН
	НаммРК	КН + НаммРК
	НнитрРК	КН + НнитрРК
	НаммНнитрРК	КН + НаммНнитрРК
100 г нефти/кг почвы	Контроль без удобрений	Контроль + 100 г нефти
	НаммРК	100 г нефти + НаммРК
	НнитрРК	100 г нефти + НнитрРК
	НаммНнитрРК	100 г нефти + НаммНнитрРК
150 г нефти/кг почвы	Контроль без удобрений	Контроль + 150 г нефти
	НаммРК	150 г нефти + НаммРК
	НнитрРК	150 г нефти + НнитрРК
	НаммНнитрРК	150 г нефти + НаммНнитрРК
<b>Почва - чернозем типичный</b>		
Контроль незагрязненный (КН)	Контроль без удобрений	КН
	НаммРК	КН + НаммРК
	НнитрРК	КН + НнитрРК
	НаммНнитрРК	КН + НаммНнитрРК
5 г нефти/кг почвы	Контроль без удобрений	Контроль + 5 г нефти
	НаммРК	5 г нефти + НаммРК
	НнитрРК	5 г нефти + НнитрРК
	НаммНнитрРК	5 г нефти + НаммНнитрРК
7 г нефти/кг почвы	Контроль без удобрений	Контроль + 7 г нефти
	НаммРК	7 г нефти + НаммРК
	НнитрРК	7 г нефти + НнитрРК
	НаммНнитрРК	7 г нефти + НаммНнитрРК

В рамках исследования создавалось два уровня загрязнения почв нефтью. Выбранные дозы загрязнения лежат ниже границы значений, при которых целесообразно начинать биологический этап ремедиации загрязненных земель для исследуемых типов почв.

Для торфяной олиготрофной почвы были выбраны дозы, условно обозначенные как 100 г нефти на кг почвы и 150 г нефти на кг почвы. Для чернозема типичного - 5 г нефти на кг почвы и 7 г нефти на кг почвы. Точные дозы нефти в почвах на момент закладки опыта указаны в таблице 7. Подобные уровни содержания нефтепродуктов являются типичными для проведения этапа фитомелиорации (Швец, 2009). Использованные дозы загрязнения лежат выше значений допустимого остаточного содержания нефтепродуктов в почве (ДОСНП). Для Ханты-Мансийского автономного округа значения ДОСНП для торфяных болотных почв составляют 60 г/кг (Постановление правительства от 10 декабря 2004 года № 466-п). Для территорий Воронежской области, с которой был отобран чернозем типичный, не разработано региональных нормативов ДОСНП. В нашем исследовании, выбор дозы загрязнения руководствовался нормативом, разработанным для Республики Татарстан (Приказ МПР Республики Татарстан № 174-п от 14.05.2012 г.), согласно которому ДОСНП в черноземе типичном составляет 3,1 г/кг.

Использованный шаг в дозах нефтезагрязнения позволяет гарантировано получить значимую разницу между вариантами, так как ошибка определения нефтепродуктов методом ИКС составляет 25 %. Все исследуемые дозы соответствует высокому уровню загрязнения согласно «Методическим рекомендациям по выявлению деградированных и загрязненных земель» (Письмо Роскомзема от 27.03.1995 № 3-15/582).

**Таблица 7.** Исходные дозы нефтепродуктов в почвах

Почва	Условное обозначение	Содержание нефтепродуктов, мг/кг почвы
Олиготрофная торфяная	100 г нефти/кг почвы	98 512 ± 12 725
	150 г нефти/кг почвы	146 891 ± 14 211
Чернозем типичный	5 г нефти/кг почвы	4 890 ± 412
	7 г нефти кг почвы	7 200 ± 681

Оптимизация агрохимического фона производилась путем внесения удобрений. Доза и формы удобрений выбирались согласно разработанной схеме опыта. Удобрения вносились в почву путем тщательного перемешивания с почвенной массой, для равномерного распределения агрохимических средств в объеме.

Для опыта были использованы сосуды вместимостью 2 л. На дно каждого сосуда помещалось 2 см дренажной смеси. После набивки почву в сосудах увлажняли водопроводной водой до 60% НВ.

Во влажную почву производился посев семян тест-культур из расчета нормы высева 80 кг/га. Норма высева семян рекультивационной смеси повышена в связи с высокой степенью загрязнения почвы нефтепродуктами. Норма высева семян пересчитывалась на площадь используемых сосудов и составила 0,2 г/сосуд.

В ходе исследования проводилось наблюдение и уход за вегетационным опытом. Производился полив почвы в сосудах из расчета 60% НВ, уход за растениями и периодическое перемещение на опытном участке сосудов для формирования равномерных условий для произрастания растений.

После окончания вегетационного периода произведена срезка полученной биомассы растений, которая впоследствии была высушена, взвешена и подготовлена для лабораторных исследований.

По окончании вегетационного опыта из каждого сосуда были отобраны образцы почв для дальнейших аналитических исследований: проведения агрохимического анализа, исследований ферментативной активности и молекулярных исследований микробного консорциума в почвах.

## 2.3 Методы исследования

### 2.3.1 Агрохимические свойства почв

Основные агрохимические показатели *торфяной олиготрофной почвы* определялись с использованием следующих методик:

- рН<sub>KCl</sub> по ГОСТ 26483;
- гидролитическая кислотность по методу Каппена (ГОСТ 26212);
- подвижные формы фосфора и обменного калия по методу Кирсанова (ГОСТ 26207);
- содержание аммонийного азота по Грандваль-Ляжу ГОСТ (ГОСТ 27894.3);
- содержание нитратного азота - колориметрически в вытяжке 0,1 н HCl (Минеев, 2001).

Для определения агрохимических показателей *чернозема типичного* были использованы следующие методики:

- рН<sub>KCl</sub> по ГОСТ 26483;
- гидролитическая кислотность по методу Каппена (ГОСТ 26212);
- гумус по Тюрину в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26213);
- подвижные формы фосфора и обменного калия по методу Чирикова, в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26204);
- содержание аммонийного азота по Грандваль-Ляжу ГОСТ (Минеев, 2001);



- содержание нитратного азота - колориметрически по (Минеев, 2001).

### **2.3.2 Ферментативная активность почв**

#### **Определение активности каталазы**

Каталазная активность определялась титриметрически по методу Джонсона и Темпле (Хазиев, 2005). В основе метода лежит изменение скорости распада перекиси водорода в почве. Навеска почвы помещалась в коническую колбу, куда добавлялись дистиллированная вода и 0,3%-й раствор перекиси водорода. После непродолжительного взбалтывания, в колбу добавлялось 5 мл 3 н. раствора серной кислоты для стабилизации нерасщепленной части перекиси водорода. Полученный раствор был отфильтрован, а затем в аликвоте фильтрата определялось количество нерасщепленной перекиси водорода титрованием перманганатом с точно установленной концентрацией до слабо-розовой окраски.

Параллельно проводилось холостое определение - измерялось количество перманганата, которое израсходовано на титрование исходной перекиси водорода. По разнице между холостым определением и титрованием почве и количеством перманганата, пошедшего на титрование почвенного фильтрата, устанавливается каталазная активность почвы, выраженная в мл 0,1 н  $\text{KMnO}_4$  на 1 г сухой почвы за 20 минут.

#### **Определение активности уреазы**

Активность уреазы исследовалась по Хазиеву (2005), инкубацией навески почвы с раствором мочевины, в присутствии фосфатного буфера. Метод основан на определении количества аммония, образовавшегося в результате добавления мочевины в почву.

Навеску почвы помещали в коническую колбу. К навеске приливали раствор фосфатного буфера с рН 6,7 и 10 мл 10%-го раствора мочевины. Колбу, закрытую ватной пробкой, встряхивали и помещали в термостат на сутки при температуре 37°C. По окончании периода инкубации из почвы вытесняли образовавшийся аммиак добавлением 1 н. раствора хлорида калия. После взбалтывания в течении 5 минут полученная суспензия переносилась на фильтр. В аликвоте фильтрата определялось количество аммиака колориметрически с помощью окрашивания полученного фильтрата реактивом Несслера.

Количество аммиака рассчитывалось с использованием предварительно построенной калибровочной кривой. Активность уреазы выражалась в мг  $\text{N-NH}_4$  на 10 г почвы за сутки.

#### **Определение активности фосфатазы**

Исследование общей фосфатазной активности проводилось при естественном рН почвы с использованием  $\beta$ -глицерофосфата натрия (Минеев, 2001). В основе метода лежит определение содержания фосфора, полученного от субстрата под действием фосфатаз.

В коническую колбу помещалась навеска почвы, увлажнялась дистиллированной водой и добавлялся 1 мл раствора, содержащего 5 мг  $\beta$ -глицерофосфата натрия. Закрытые пробками колбы взбалтывали на ротаторе в течение 5 минут и устанавливали в термостат с установленной температурой 30°C на 1 час. После инкубации и добавления дистиллированной воды почвенная суспензия отфильтровывалась, а в аликвоте полученного почвенного фильтрата определялось содержание  $P_2O_5$  колориметрически после окрашивания по Дениже.

Количество фосфора определялось по калибровочному графику, построенному с использованием стандартного и рабочего растворов. Активность фосфатазы выражалась в мг  $P_2O_5$  на 100 г почвы за 1 час.

### **2.3.3 Микробиологические исследования почв**

#### **Выделение ДНК из почвенных образцов**

Выделение генетического материала проводилось из свежих почвенных образцов, отобранных непосредственно после окончания вегетационного опыта. Образцы почвы, взятые для анализа, были обработаны с использованием набора буферов для выделения ДНК из почвы - FastDNA SPIN Kit for Soil. Выделенные образцы ДНК в пробирках были помещены на хранение при температуре -20°C.

#### **Проведение ПЦР (полимеразной цепной реакции)**

Определение количества копий генов бактерий и архей проводилось с применением метода количественной ПЦР в реальном времени. Этот метод позволяет не только сказать о наличии определенных генов, но и оценить их количественно (Манучарова, 2014).

Для проведения полимеразной цепной реакции была использована универсальная праймерная система, к которой добавлялась исследуемые образцы ДНК.

### **2.3.4 Определение содержания нефтепродуктов в почве**

Содержание нефтепродуктов определялось методом ИК-спектрометрии после их экстракции из почвы с помощью четыреххлористого углерода в соответствии с ПНД Ф 16.1:2.2.22-98.

### **2.3.5 Определение супрессивности почвы**

Определение супрессивности почвы производилось по окончании вегетационного опыта. Для исследования были использованы образцы почвы, отобранные для аналитических исследований из каждого сосуда.

Исследование супрессирующей способности почв проводилось по методике, описанной рядом зарубежных авторов (Maurhofer, 1992; Erhart et al., 1999; Tamm et al., 2010). В ее основе лежит принцип биотестирования, в частности, оценка реакции растительного тест-объекта на

негативное влияние загрязнителя, в данном случае - фитопатогена. Методика была модифицирована с учетом особенностей используемых объектов исследования и технических возможностей проведения исследования.

Предварительно, была проведена серия рекогносцировочных опытов, в процессе которых уточнялась схема лабораторного эксперимента, подходящие концентрации используемого патогена, а также необходимое время для его проведения.

Определение супрессивности производилось в трехкратной повторности в соответствии со схемой опыта (табл. 8).

**Таблица 8.** Схема исследования супрессивности

Доза загрязнения	Внесение патогена	Условное обозначение варианта	Доза загрязнения	Внесение патогена	Условное обозначение варианта
<b>Почва - олиготрофная торфяная</b>			<b>Почва - чернозем типичный</b>		
Контроль незагрязненный	нет	КН	Контроль незагрязненный	нет	КН
	да	КН + П		да	КН + П
100 г нефти/кг почвы	нет	100 г нефти	5 г нефти/кг почвы	нет	5 г нефти
	да	100 г нефти + П		да	5 г нефти + П
150 г нефти/кг почвы	нет	150 г нефти	7 г нефти/кг почвы	нет	7 г нефти
	да	150 г нефти + П		да	7 г нефти + П

В качестве модельной системы для тестирования устойчивости почвы к патогенам были выбраны фитопатоген *Fusarium solani* и яровая пшеница (*Triticum aestivum* L.) сорта «Злата». *Fusarium solani* является довольно часто используемым патогеном при исследовании супрессивности почвы (Tilston et al., 2002; Sabuquillo et al., 2005; Pane et al., 2011). Выбор именно данного объекта был также обусловлен тем, что представители рода *Fusarium* устойчивы к нефтезагрязнению, что, вероятно, связано с их высокой устойчивостью к неблагоприятным факторам среды и способностью к адаптации (Бакаева, 2004). Они показывают высокую скорость роста даже в условиях нефтезагрязнения, что делает эти микромицеты подходящим объектом для исследования супрессивности почвы.

Для проведения исследования супрессивности была подготовлена суспензия, содержащая споры *Fusarium solani* в количестве  $1,25 \cdot 10^7$  спор/мл. Подсчет количества спор производился при помощи камеры Горяева (Звягинцев, 1991).

Выбранная тест-культура (*Triticum aestivum* L.) также часто используется при определении супрессивности почвы как в зарубежных, так и в отечественных исследованиях (Wiseman et al., 1996; Pankhurst et al., 2002; Tilston et al., 2002; Weller et al. 2002; Торопова и др., 2016а, 2016б, 2020). Помимо этого, яровая пшеница широко применяется при фитотестировании

нефтезагрязненных почв (Трофимов и др., 2008; Арзамазова и др., 2016). Перед началом исследования определена всхожесть семян, которая составила 98%.

Отобранные образцы почвы были просушены на воздухе и просеяны через сито размером 1 мм. Затем каждую стерильную одноразовую чашку Петри диаметром 10 см заполняли предварительно увлажненной до 60% от полной влагоемкости почвой слоем 1 см. Для увлажнения использовалась стерильная дистиллированная вода. После этого почвы оставались на сутки при комнатной температуре для активации микробного комплекса.

Затем в каждую чашку инокулировали *Fusarium solani* путем внесения необходимого количества суспензии, содержащей споры этого микромицета в концентрации  $1 \cdot 10^5$  спор/мл, почва тщательно перемешивалась для достижения равномерного распределения спор во всей массе почвы. Указанная концентрация была одинакова для всех вариантов опыта и установлена при проведении аналогичного рекогносцировочного опыта по сокращенной схеме.

После инокуляции чашки Петри закрывались крышками и помещались в климатическую камеру с постоянной температурой 25°C на 7 дней для проращивания спор микромицета. В процессе производился отбор образцов почвы из чашек для определения стадии развития *Fusarium solani*. Для этого подготавливались препараты, которые впоследствии окрашивались с помощью калькофлюора и оценивалось количество проросших спор с помощью люминесцентной микроскопии (Звягинцев, 1991). Данная процедура позволила уточнить оптимальный временной интервал, когда возможно разместить семена тест-культур в чашках Петри.

По истечении 7 дней в каждую чашку помещалось по 20 семян яровой пшеницы, предварительно отсортированных по размеру. Семена распределялись равномерно по всей чашке Петри на глубине 1-2 мм. Почва по необходимости равномерно увлажнялась (количество необходимой воды определялось весовым методом), помещалась в климатическую камеру и семена проращивались в течение 5 дней при температуре 22°C и при искусственном освещении 5000 лк продолжительностью 12 часов в сутки. В течение исследования поддерживался заданный уровень увлажненности почвы.

Результаты эксперимента были подсчитаны по истечении 5 дней. Согласно методике (Tamm et al., 2010; Bongiorno et al., 2019) требуется оценить массу побегов в каждом варианте, однако для наших исследований мы выбрали другие параметры для оценки воздействия патогенов на тест-культуру. Так как в основе данной методики лежит процедура фитотестирования, то мы ориентировались на те параметры, которые оцениваются при проведении данного анализа. Согласно методике ФР.1.39.2006.02264, используемой для оценки

токсичности техногенно загрязненных почв, оценивается всхожесть семян и длина корней проростков.

Таким образом, все проросшие семена подсчитывались, осторожно извлекаясь из почвы. Корни тщательно отмывались от налипшей почвы водой, а затем измерялась длина главного корня с точностью до 1 мм. Для каждого варианта подсчитывалось среднее значение всхожести семян и длины корней по трем измерениям.

Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью многофакторного дисперсионного анализа. Оценивалось как отдельное влияние каждого фактора (фактор А - доза загрязнения, фактор В - фитопатоген), так и их совместное воздействие.

### **2.3.6 Статистическая обработка данных**

Статистическая обработка данных проводилась с помощью стандартных пакетов Microsoft Excel 2016 и Statistica 10. Аналитические данные были получены отдельно для каждого года исследований, для трех вегетационных периодов в отдельности. Пример усреднения полученных данных приведен в приложении 6. На всех графиках данные представлены в виде средних и 95% доверительных интервалов.

Перед выполнением статистического анализа была произведена проверка нормальности распределения полученных данных с использованием критериев Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка (модули программы Statistica - «Descriptive statistics» и «Distribution Fitting»). В тех случаях, когда распределение данных не соответствовало нормальному, производилось их преобразование - возведение исходных данных в квадрат или взятие десятичного логарифма.

Для оценки достоверности влияния исследуемых факторов применялись однофакторный и двухфакторный дисперсионный анализы (модули программы Statistica - «General ANOVA/MANOVA»), с последующим расчетом наименьшей существенной разницы с использованием критерия Tukey's (НСР (LSD)) на уровне значимости 0,05.

Корреляционный анализ данных проводили с использованием коэффициентов корреляции Пирсона (модуль программы Statistica - «Multiple Linear Regression»), достоверность различий между значениями оценивали по t-критерию Стьюдента ( $p < 0,05$  и  $p < 0,01$ ).

Анализ главных компонент (Principal Component Analysis (PCA, ГК)) проводился в программе Microsoft Excel 2016 с использованием надстройки XLSTAT от Addinsoft. В качестве метода обработки данных использовался метод корреляции (Пирсона). Оценка количества выделяемых компонент производилась с помощью графика «каменистой осыпи» (scree plot). Входящие в состав главных компонент показатели определялись по их нагрузкам (factor loadings). Были построены круги корреляции (correlation circles), показывающие корреляцию между компонентами и наблюдаемыми данными, а также биплоты (biplots), на которых

отображены наблюдения и исследуемые показатели в одной плоскости. Для более точного выделения компонент был использован метод ротации данных - варимакс (Varimax).

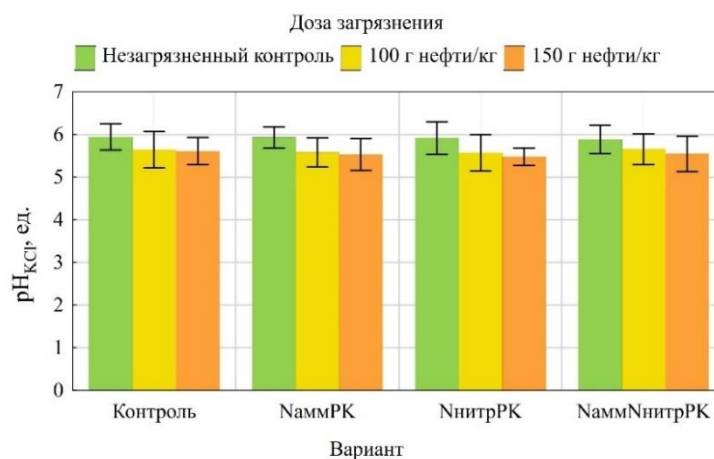
## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ<sup>1</sup>

### 3.1 Влияние минеральных удобрений на агрохимические свойства нефтезагрязненных почв

Агрохимические свойства почв оценивались по окончании вегетационного опыта. Данные представляют собой средние за три вегетационных периода по три повторности в каждом году.

#### 3.1.1 Влияние минеральных удобрений на реакцию почвенного раствора Олиготрофная торфяная почва

*Влияние нефтезагрязнения.* Загрязнение почв нефтью не привело к значимому изменению реакции почвенного раствора на всех исследуемых вариантах опыта (рис. 1, табл. 9).



**Рисунок 1.** Кислотность почвенного раствора ( $pH_{KCl}$ ) олиготрофной торфяной почвы, ед. (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

<sup>1</sup> Основные результаты, изложенные в данной главе, опубликованы в следующих научных статьях автора в журналах, индексируемых в базах данных WoS, Scopus и PSCI, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ имени М.В. Ломоносова:

1. Арзамазова А.В., Гальцова А.Д., Кинжаев Р.Р., Григорьева И.И. Эффективность применения различных форм азотных удобрений при выращивании злаковых трав на нефтезагрязненной олиготрофной торфяной почве // Проблемы агрохимии и экологии. — 2023. — № 2. — С. 41-47. DOI: 10.26178/AE.2023.51.52.007 (ИФ РИНЦ = 0,414). Вклад автора в печатных листах: 0,48/0,18 (Здесь и далее в скобках приведен объем публикации в печатных листах и вклад автора в печатных листах).
2. Гальцова А.Д., Кинжаев Р.Р., Арзамазова А.В., Романенков В.А. Оценка эффективности различных форм азотных удобрений при выращивании растений-ремедиантов на нефтезагрязненном черноземе типичном // Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение. — 2024. — Т. 79, № 1. — С. 33-41. DOI: 10.55959/msu0137-0944-17-2024-79-1-33-41 (ИФ РИНЦ = 0,226). (0,56/0,39)
3. Кинжаев Р.Р., Гальцова А.Д., Арзамазова А.В., Романенков В.А. Оптимизация азотного питания злаковых трав на нефтезагрязненной олиготрофной торфяной почве // Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение. — 2024. — Т. 79, № 1. — С. 42-50. DOI: 10.55959/msu0137-0944-17-2024-79-1-42-50 (ИФ РИНЦ = 0,226). (0,56/0,28)
4. Арзамазова А.В., Стройкова М.Н., Кинжаев Р.Р., Гальцова А.Д. Особенности применения удобрений на нефтезагрязненном подзоле иллювиально-железистом при фиторемедиации // Проблемы агрохимии и экологии. — 2024. — № 1. — С. 45-51. DOI: 10.26178/7108.2024.97.23.007 (ИФ РИНЦ = 0,414). (0,44/0,13)

pH почвенного раствора загрязненных нефтью почв снизился на 4-8% по сравнению с незагрязненным контрольным вариантом, что составило 0,2-0,4 ед. Наблюдаемая динамика статистически не значима и имеет характер тенденции (табл. 9). Контрольная незагрязненная олиготрофная торфяная почва характеризовалась как «близкая к нейтральной» по степени кислотности почвенного раствора. Загрязнение не привело к изменению pH почвы.

**Таблица 9.** Основные агрохимические характеристики олиготрофной торфяной почвы и результаты двухфакторного дисперсионного анализа со взаимодействием (среднее ± стандартное отклонение)

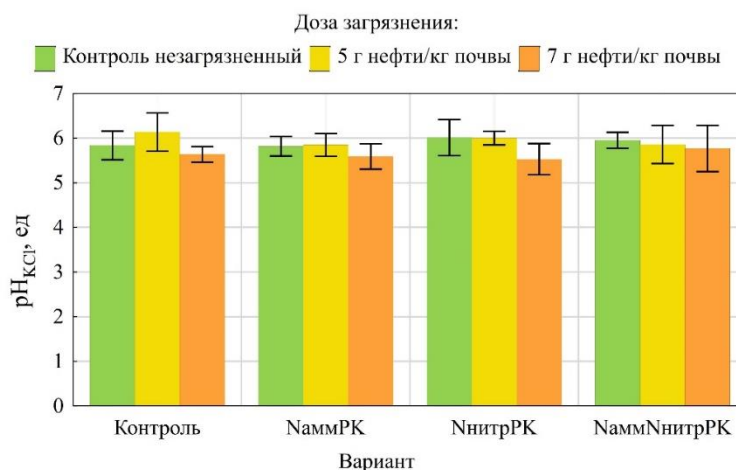
Вариант		pH <sub>KCl</sub>	N-NH <sub>4</sub> , мг/кг	N-NO <sub>3</sub> , мг/кг	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/кг	K <sub>2</sub> O, мг/кг
Контроль (КН)		5,94 ± 0,14	28,4 ± 3,1	44,0 ± 2,3	125 ± 9	160 ± 11
КН + НаммРК		5,93 ± 0,11	154,5 ± 4,8	92,0 ± 1,8	355 ± 8	528 ± 11
КН + NнитрРК		5,92 ± 0,17	115,0 ± 2,6	172,0 ± 1,4	426 ± 8	680 ± 9
КН + НаммNнитрРК		5,88 ± 0,15	135,0 ± 1,7	128,0 ± 2,7	357 ± 7	542 ± 8
Контроль + 100 г нефти		5,64 ± 0,19	19,1 ± 3,8	23,5 ± 5,3	93 ± 5	64 ± 8
100 г нефти + НаммРК		5,58 ± 0,15	129,2 ± 4,7	43,0 ± 2,6	239 ± 5	420 ± 6
100 г нефти + NнитрРК		5,57 ± 0,19	63,0 ± 4,8	101,1 ± 3,2	284 ± 4	459 ± 6
100 г нефти + НаммNнитрРК		5,66 ± 0,16	99,4 ± 2,5	93,5 ± 2,9	223 ± 4	365 ± 7
Контроль + 150 г нефти		5,61 ± 0,15	16,6 ± 5,5	19,4 ± 1,9	95 ± 8	62 ± 9
150 г нефти + НаммРК		5,53 ± 0,17	108,1 ± 5,4	63,0 ± 2,9	290 ± 10	470 ± 9
150 г нефти + NнитрРК		5,48 ± 0,10	64,2 ± 1,2	99,2 ± 3,2	286 ± 11	464 ± 11
150 г нефти + НаммNнитрРК		5,55 ± 0,19	85,9 ± 4,1	103,2 ± 1,2	255 ± 6	410 ± 9
Фактор А «Доза загрязнения»	F	2,28	505	1122	888	1284
	p	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00
Фактор В «Форма удобрения»	F	0,53	1954	2755	2180	5754
	p	0,67	0,00	0,00	0,00	0,00
Взаимодействие факторов АВ	F	0,26	41	95	63	72
	p	0,95	0,00	0,00	0,00	0,00
F <sub>t</sub> = 2,31						

*Влияние удобрений.* Исследование воздействия удобрений на кислотность почвенного раствора показала отсутствие достоверной связи между этим фактором и изучаемой переменной.

Таким образом, удобрения в изученных дозах и формах не оказывают влияние на рН олиготрофной торфяной почвы.

### Чернозем типичный

*Влияние нефтезагрязнения.* Загрязнение почв нефтью оказало разнонаправленное действие на реакцию почвенного раствора чернозема типичного - увеличило или уменьшило значения рН солевой вытяжки (рис. 2, табл. 10).



**Рисунок 2.** Кислотность почвенного раствора (рН<sub>KCl</sub>) чернозема типичного, ед. (среднее ± 95% доверительный интервал)

**Таблица 10.** Основные агрохимические характеристики чернозема типичного и результаты двухфакторного дисперсионного анализа со взаимодействием (среднее ± стандартное отклонение)

Вариант	рН <sub>KCl</sub>	N-NH <sub>4</sub> , мг/кг	N-NO <sub>3</sub> , мг/кг	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/кг	K <sub>2</sub> O, мг/кг
Контроль (КН)	5,84 ± 0,15	12,9 ± 0,6	13,7 ± 1,0	119 ± 6	241 ± 12
КН + НаммРК	5,82 ± 0,10	18,9 ± 0,8	20,4 ± 1,0	167 ± 10	341 ± 10
КН + НнитрРК	6,00 ± 0,18	15,8 ± 0,7	33,7 ± 1,1	136 ± 6	319 ± 12
КН + НаммНнитрРК	5,95 ± 0,08	17,2 ± 0,8	26,0 ± 0,9	151 ± 8	291 ± 12
Контроль + 5 г нефти	6,14 ± 0,20	12,7 ± 0,3	10,3 ± 0,7	93 ± 5	198 ± 16
5 г нефти + НаммРК	5,85 ± 0,12	17,4 ± 0,8	16,1 ± 0,6	155 ± 7	303 ± 7
5 г нефти + НнитрРК	6,00 ± 0,7	14,7 ± 0,4	25,7 ± 1,1	122 ± 8	273 ± 7
5 г нефти + НаммНнитрРК	5,86 ± 0,20	16,7 ± 0,3	20,8 ± 1,1	134 ± 4	240 ± 10
Контроль + 7 г нефти	5,64 ± 0,08	12,1 ± 0,5	8,6 ± 0,9	82 ± 7	177 ± 15
7 г нефти + НаммРК	5,59 ± 0,13	17,0 ± 0,4	12,8 ± 0,8	145 ± 9	287 ± 12
7 г нефти + НнитрРК	5,53 ± 0,16	13,8 ± 0,4	22,6 ± 1,4	112 ± 7	259 ± 11



Вариант		pH <sub>KCl</sub>	N-NH <sub>4</sub> , мг/кг	N-NO <sub>3</sub> , мг/кг	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/кг	K <sub>2</sub> O, мг/кг
7 г нефти+ НаммNнитрPK		5,77 ± 0,24	16,3 ± 0,7	18,2 ± 1,2	129 ± 10	236 ± 14
Фактор А «Доза загрязнения»	F	2,04	22,6	247,3	50,8	102,0
	p	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00
Фактор В «Форма удобрения»	F	1,5	180,5	570,6	128,0	166,9
	p	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00
Взаимодействие факторов АВ	F	2,3	1,5	6,7	1,1	0,5
	p	0,07	0,21	0,00	0,36	0,82
F <sub>t</sub> = 2,31						

Однако, значимого воздействия на уровень кислотности в почве не обнаружено. Степень кислотности загрязненной почвы не изменилась по сравнению с контрольным незагрязненным вариантом и осталась на близкой к нейтральной.

Изменение реакции почвенного раствора под воздействием меньшей дозы загрязнения (5 г нефти/кг) варьировало на уровне 1-5% по сравнению с незагрязненным контролем, что оказалось незначимым. При большем содержании нефти в почве произошло снижение pH почвенного раствора на 3-12%, однако и эти изменения носят характер тенденции.

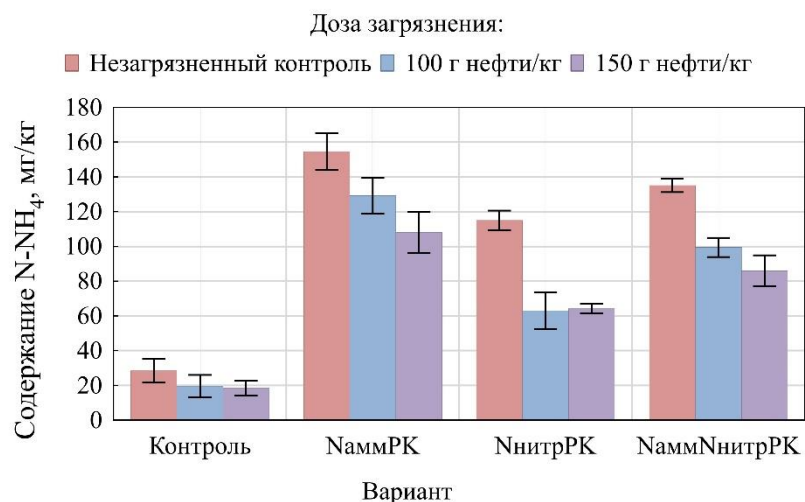
*Влияние удобрений.* Основываясь на результатах дисперсионного анализа, можно сказать об отсутствии влияния внесения удобрений на изменение почвенной кислотности (табл. 10). Значения pH солевой вытяжки имели тенденцию к снижению на 1-5% на фоне применения удобрений, но изменения были статистически незначимыми.

### 3.1.2 Влияние минеральных удобрений на содержание минерального азота в почве

#### Торфяная олиготрофная почва

##### *Содержание аммонийного азота в почве*

*Влияние нефтезагрязнения.* Содержание аммонийной формы азота в олиготрофной торфяной почве претерпело значительные изменения на фоне нефтезагрязнения (рис. 3, табл. 9). Количество аммонийного азота в нефтезагрязненной почве достоверно снижалось по сравнению с контролем - на 33% при загрязнении в дозе 100 г/кг и на 42% при большей дозе поллютанта.



**Рисунок 3.** Содержание аммонийного азота в олиготрофной торфяной почве, мг/кг (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

*Влияние удобрений.* Содержание аммонийной формы азота в почве закономерно увеличивалось на фоне внесения удобрений на всех вариантах опыта. В незагрязненной почве эффект был выражен сильнее. Применение аммонийных удобрений привело к увеличению содержания данной формы азота в незагрязненной почве в 5,4 раза. Эффект от внесения нитратной и аммонийной форм азота в варианте «НаммНнитрPK» оказался менее выраженным - содержание аммонийного азота увеличилось в 4,7 раз по сравнению с вариантом без применения удобрений.

На загрязненной почве после применения удобрений сохраняется аналогичная тенденция в увеличении содержания аммонийной формы азота. При этом степень воздействия удобрений на фоне нефтезагрязнения оказалась ниже, чем на «чистой» почве и уменьшалась по мере увеличения дозы поллютанта. При дозе 100 г/кг содержание аммонийного азота увеличилось в 2,3-4,5 раза, а при повышении дозы нефти до 150 г/кг - в 2,2-3,8 раза. При увеличении дозы загрязнения до 150 г/кг содержание аммонийного азота в почве падало на 14-16% по сравнению с меньшей дозой загрязнения. Однако, в варианте «НнитрPK» не отмечено значимого влияния разных доз загрязнения на содержание аммонийного азота в почве.

Несмотря на то, что при применении азотных удобрений в нитратной форме не происходило непосредственного внесения аммонийного азота в почву, его содержание также возрастало по сравнению с контролем - в 4 раза на незагрязненной почве.

Можно предположить, что действие нитратной формы азота связано с благоприятным влиянием азотных удобрений на активность почвенной микробиоты, которая участвует в процессе аммонификации, тем самым увеличивая количество аммонийного азота в почве. Однако на фоне загрязнения почв нефтью внесение нитратного азота не оказало сильного влияния на содержание аммонийного азота в почве - его количество было ниже на 45% по

сравнению с незагрязненным контролем. Что может свидетельствовать о заторможенности процессов аммонификации в нефтезагрязненных почвах (Смирнова, Панина, 2015). Можно считать, что с помощью внесения только нитратных удобрений не удалось в полной мере компенсировать неблагоприятное воздействие нефти и продуктов ее разложения в почве.

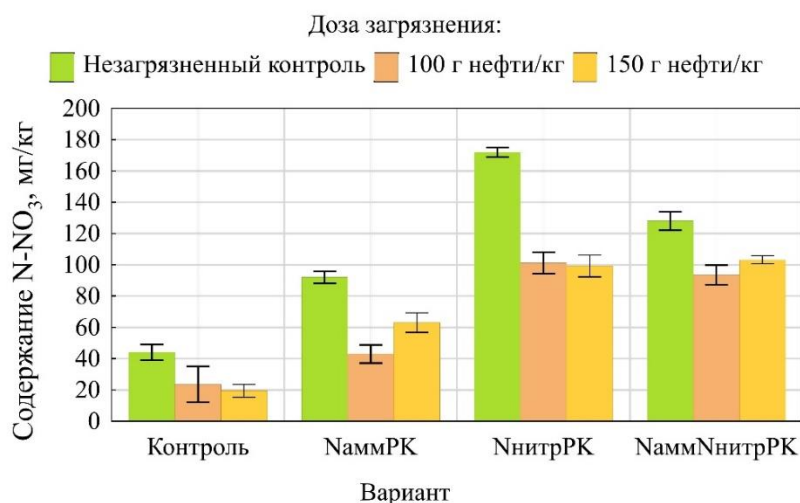
Дисперсионный анализ подтвердил тесную взаимосвязь между содержанием аммонийного азота в почве и изучаемыми факторами - дозой загрязнения ( $F = 505$ ,  $F_t = 2,31$ ) и формой удобрений ( $F = 1954$ ,  $F_t = 2,31$ ) (табл. 9). Использование двухфакторного дисперсионного анализа обнаруживает также наличие совместного влияния факторов ( $F = 41$ ,  $F_t = 2,31$ ). Это выражается, в частности, в разной интенсивности воздействия изучаемых доз загрязнения на содержание аммонийного азота в почве (табл. 11).

**Таблица 11.** Различия в содержании аммонийного азота в олиготрофной торфяной почве при применении минеральных форм удобрений на разных дозах загрязнения

Форма удобрения	Доза загрязнения	Среднее содержание N-NH <sub>4</sub> , мг/кг	Разница между дозами загрязнения, мг/кг; %
НаммРК	100 г нефти	129,2	-21,1 (-16,3%)
	150 г нефти	108,1	
НнитрРК	100 г нефти	63,0	+1,2 (+1,9%)
	150 г нефти	64,2	
НаммНнитрРК	100 г нефти	99,4	-13,6 (-13,6%)
	150 г нефти	85,9	

### *Содержание нитратного азота в почве*

*Влияние нефтезагрязнения.* Содержание нитратного азота в почве находится в тесной зависимости с содержанием нефти в почве (рис. 4, табл. 9).



**Рисунок 4.** Содержание нитратного азота в олиготрофной торфяной почве, мг/кг (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

В загрязненных почвах содержание нитратного азота было меньше, чем на контроле на 47% и 56% для вариантов с дозой поллютанта 100 г нефти и 150 г нефти, соответственно. Однако, исследуемые дозы загрязнения не показали между собой статистически значимых различий. Степень их воздействия на содержание нитратного азота можно считать одинаковым.

*Влияние удобрений.* Использование дисперсионного анализа показало, что на фоне нефтезагрязнения снизилось содержание нитратного азота в почве как на вариантах без внесения удобрений ( $F = 1122$ ,  $F_t = 2,31$ ), так и на фоне оптимизации условий питания растений с использованием агрохимических средств ( $F = 2755$ ,  $F_t = 2,31$ ) (табл. 9). Воздействие удобрений по результатам статистического анализа оказывается сильнее, чем действие нефтезагрязнения. Это может выражаться в «компенсирующем» действии удобрений по отношению к воздействию поллютанта, а также в разной эффективности одинаковых форм удобрений в зависимости от дозы загрязнения (табл. 12).

**Таблица 12.** Различия в содержании нитратного азота в олиготрофной торфяной почве при применении минеральных форм удобрений на разных дозах загрязнения

Форма удобрения	Доза загрязнения	Среднее содержание N-NO <sub>3</sub> , мг/кг	Разница между дозами загрязнения мг/кг; %
НаммРК	100 г нефти	43,0	+20,0 (+46,5%)
	150 г нефти	63,0	
НнитрРК	100 г нефти	101,1	-1,9 (-1,9%)
	150 г нефти	99,2	
НаммНнитрРК	100 г нефти	93,5	+9,7 (+10,4%)
	150 г нефти	103,2	

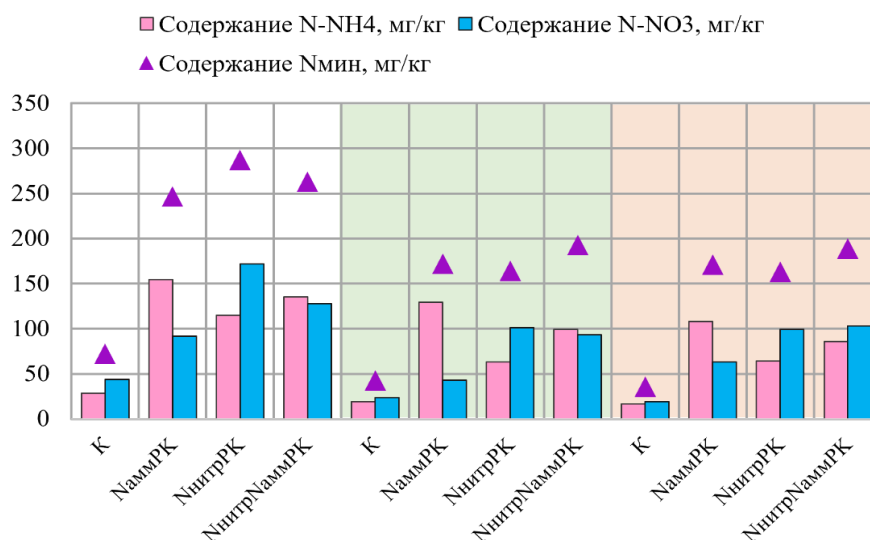
В вариантах «НаммРК» и «НаммНнитрРК» эффективность удобрений выше на почвах, загрязненных большей дозой - 150 г/кг. Наибольшие различия наблюдаются при применении аммонийной формы азотных удобрений. При оптимизации условий питания растений, с помощью удобрений, содержащих нитратную форму азота, разница между исследуемыми дозами загрязнения нивелируется и составляет всего 2%, что статистически не значимо.

#### ***Содержание минерального азота в почве***

*Влияние нефтезагрязнения.* В целом, нефтезагрязнение привело к значимому снижению содержания минерального азота в почве (рис. 5). На вариантах без применения удобрения его содержание упало на 41% и 50% при загрязнении дозами 100 г/кг и 150 г/кг соответственно.

*Влияние удобрений.* Внесение удобрений позволило в некоторой степени снизить негативное влияние нефтезагрязнения, особенно при использовании совместно нитратной и аммонийной форм. Снижение содержания минерального азота по сравнению с незагрязненным контролем на

этом варианте составило 27,5%. Следует отметить, что оптимизация условий питания растений также привела к сглаживанию различий между разными дозами загрязнения до 0,6-2%.



**Рисунок 5.** Содержание минерального, нитратного и аммонийного азота в олиготрофной торфяной почве, мг/кг (среднее); цветными зонами на графике обозначены варианты, загрязненные нефтью: зеленая зона – 100 г нефти/кг почвы; оранжевая зона – 150 г нефти/кг почвы

На фоне загрязнения нефтью произошло изменение соотношения содержания аммонийного и нитратного азота в олиготрофной торфяной почве. Соотношение  $N_{NH_4}:N_{NO_3}$  в удобренных вариантах опыта изменятся с 1:1,5 в незагрязненной почве до 1:1,2 в загрязненной.

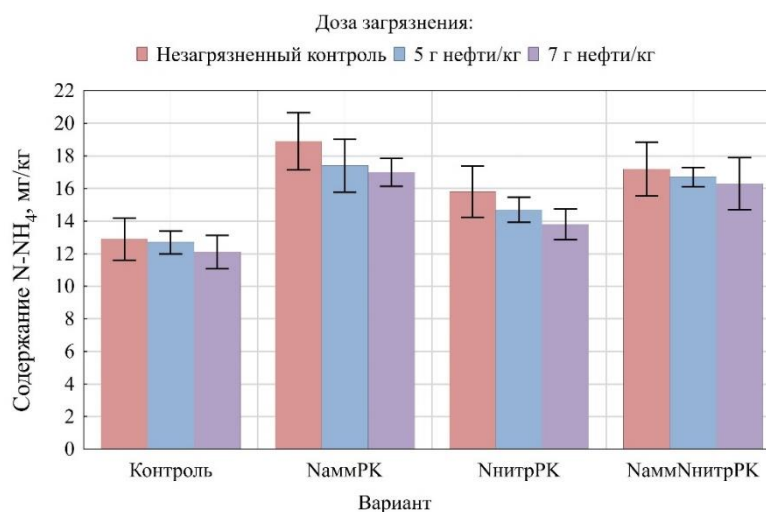
Загрязнение почв нефтью приводит к уменьшению содержания нитратного азота как в абсолютном, так и в процентном выражении. Учитывая то, что попадание нефти в почву приводит к резкому увеличению соотношения C:N, то, вероятно, уменьшение содержания нитратного азота по отношению к аммонийному может свидетельствовать об активном потреблении этой формы микроорганизмами.

Применение нитратных форм удобрений позволяет компенсировать повышенное потребление нитратного азота в почве, о чем свидетельствует увеличение содержания этой формы в сторону ее преобладания над содержанием аммонийного азота, а также практически неизменное соотношение  $N_{NH_4}:N_{NO_3}$  при попадании поллютанта в почву, равное 1:1,5. Внесение совместно нитратной и аммонийной форм позволяет добиться практически равного, сбалансированного соотношения  $N_{NH_4}:N_{NO_3}=1:0,9$  во всех вариантах опыта.

## Чернозем типичный

### Содержание аммонийного азота в почве

*Влияние нефтезагрязнения.* Проведенный агрохимический анализ чернозема типичного показал, что содержание аммонийного азота в почве изменяется при загрязнении ее нефтью (рис. 6, табл. 10). Количество данной формы азота в вариантах без применения удобрений уменьшилось на 1,6% при загрязнении дозой нефти 5 г/кг и на 6,2% при увеличении дозы нефти до 7 г/кг. Однако, подобные изменения статистически не значимы и носят характер тенденции.



**Рисунок 6.** Содержание аммонийного азота в черноземе типичном, мг/кг (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

*Влияние удобрений.* Удобрения, несомненно, оказали значимый эффект на содержание аммонийного азота в почве, даже в тех вариантах, где непосредственно эта форма азота не вносилась. Это подтверждается результатами статистического анализа (табл. 10).

Содержание аммонийного азота было наибольшим на варианте с внесением азотных удобрений в аммонийной форме - на 40-47% по сравнению с контролем без удобрений. В меньшей степени увеличилось количество аммонийного азота при применении совместно нитратной и аммонийной формы азота - на 31-35% по отношению к неудобренным вариантам.

При этом следует отметить, что при проведении более детального статистического анализа с помощью расчета наименьших существенных разностей (НСР) было выявлено следующее: на загрязненных почвах действие аммонийной и аммонийно-нитратной формы удобрений значимо между собой не отличается (табл. 13). А на варианте «НаммНнитрPK» отсутствует влияние нефтезагрязнения.

Однако, как и в случае с торфяной олиготрофной почвой, внесение нитратного азота на черноземе типичном также повысило содержание аммонийного азота в почве на 14-22%. Это может также свидетельствовать о влиянии нитратного азота на активность метаболизма почвенных микроорганизмов и, как следствие, на содержание аммонийного азота в почве.

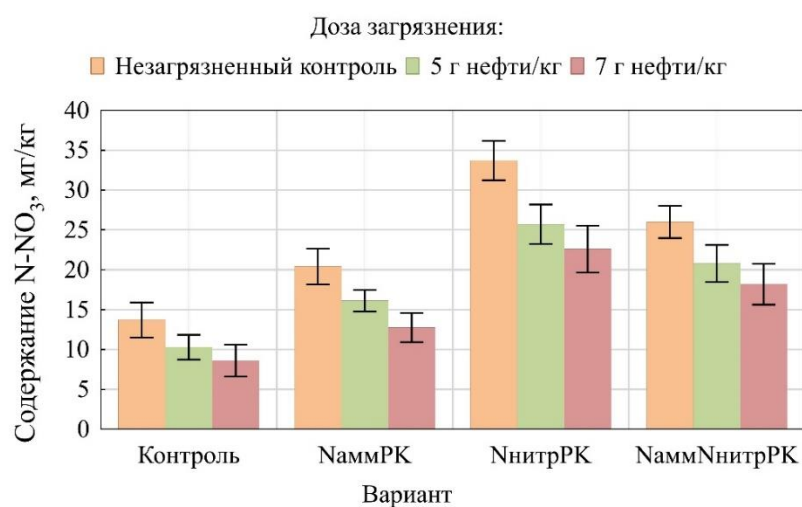
**Таблица 13.** Содержание аммонийного азота в черноземе типичном, мг/кг (среднее)

Форма удобрения - фактор В	Доза загрязнения - фактор А			НСР <sub>05</sub> В
	Контроль незагрязненный	5 г нефти/кг	7 г нефти/кг	
Контроль без удобрений	12,9	12,7	12,1	0,60
НаммРК	18,9	17,4	17,9	1,18
НнитрРК	15,8	14,7	13,8	0,93
НаммНнитрРК	17,2	16,7	16,3	F < F <sub>t</sub>
НСР <sub>05</sub> А	1,11	0,71	0,80	

*Совместное влияние исследуемых факторов* на содержание аммонийного азота в черноземе типичном не обнаруживается (табл. 10). Это может свидетельствовать о том, что содержание аммонийного азота в черноземе типичном определяется преимущественно формой удобрения ( $F = 570,6$ ,  $F_t = 2,31$ ) и эффект воздействия данного фактора проявляется сходно при разных дозах загрязнения нефтью.

#### **Содержание нитратного азота**

*Влияние нефтезагрязнения.* Содержание нитратного азота в черноземе типичном претерпевает значительные изменения на фоне нефтезагрязнения (рис. 7, табл. 10).



**Рисунок 7.** Содержание нитратного азота в черноземе типичном, мг/кг (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

Количество нитратного азота на вариантах без применения удобрений падает на 25-37% на фоне загрязнения почвы нефтью. Аналогичная динамика сохраняется и при внесении удобрений в почву: содержание нитратной формы азота в почве уменьшается на 20-24% в варианте с дозой загрязнения 5 г/кг и на 30-37% в варианте с дозой 7 г/кг.

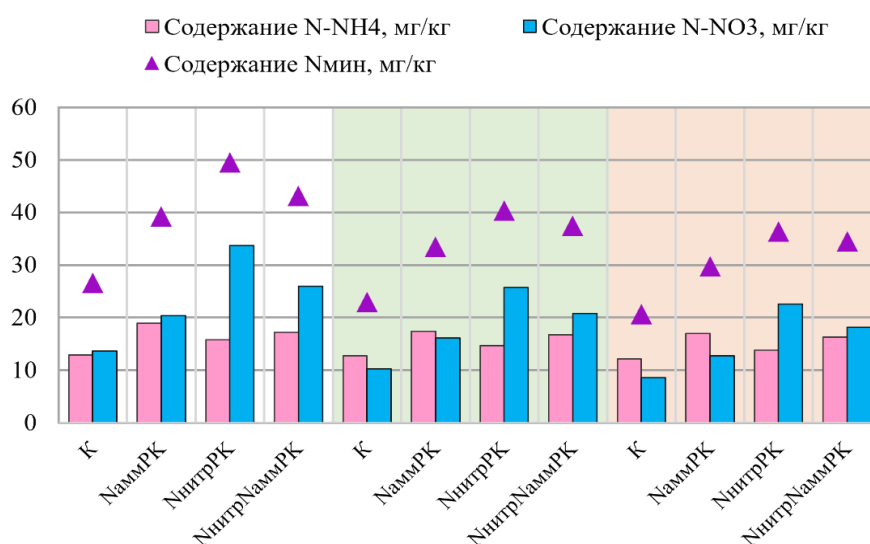
*Влияние удобрений.* Согласно проведенному дисперсионному анализу, удобрения оказывают значимое влияние на содержание нитратного азота в черноземе типичном (табл. 10).

Максимальное накопление нитратного азота выявлено на варианте с внесением удобрения, содержащего только нитратную форму азота - на 146-163% больше по сравнению с неудобренным контролем.

Меньше всего нитратного азота закономерно содержали почвы, в которые было внесено азотное удобрение в аммонийной форме («НаммРК»): на 22-44% меньше, чем при применении других форм удобрений. Повышение содержания нитратной формы азота по сравнению с контролем без удобрений в этом случае может обусловлено тем, что часть аммонийного азота трансформировалось в нитраты в процессе нитрификации.

### **Содержание минерального азота**

*Влияние нефтезагрязнения.* Нефтезагрязнение оказало влияние на минеральный азот в черноземе типичном (рис. 8, табл. 10) - его содержание уменьшилось при попадании поллютанта в почву на 41-50% в вариантах, где не применялись удобрения.



**Рисунок 8.** Содержание минерального, нитратного и аммонийного азота черноземе типичном, мг/кг (среднее); цветными зонами на графике обозначены варианты, загрязненные нефтью: зеленая зона – 5 г нефти/кг почвы; оранжевая зона – 7 г нефти/кг почвы

*Влияние удобрений.* Внесение минеральных азотсодержащих удобрений привело к закономерному увеличению количества минерального азота в почве. Однако, при применении удобрений сохраняется негативное воздействие нефтезагрязнения - содержание минерального азота в контрольных «чистых» почвах остается выше на 41-60% по сравнению с нефтезагрязненными. Отмечено также, что удобрения оказывали более интенсивное действие на вариантах с большей дозой загрязнения почв нефтью (7 г/кг). Содержание минерального азота в почвах, загрязненных оказывается выше на 2-23% (табл. 14).



**Таблица 14.** Различия в содержании минерального азота в черноземе типичном при применении минеральных форм удобрений на разных дозах загрязнения

Форма удобрения	Доза загрязнения	Среднее содержание $N_{\text{мин}}$ , мг/кг	Разница между дозами загрязнения мг/кг; %
Контроль без удобрений	5 г нефти	42,6	-6,6 (-15,6%)
	7 г нефти	36,0	
НаммРК	5 г нефти	108,51	+2,5 (+2,2%)
	7 г нефти	111,0	
НнитрРК	5 г нефти	102,2	+29,9 (+22,7%)
	7 г нефти	132,1	
НаммНнитрРК	5 г нефти	116,6	+17,7 (+13,2%)
	7 г нефти	134,3	

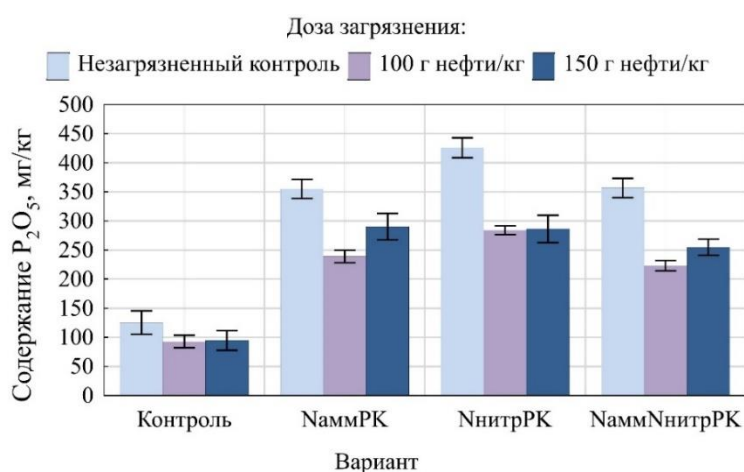
Воздействие поллютанта приводило к некоторым изменениям в соотношении  $N_{\text{NH}_4}:N_{\text{NO}_3}$  в почве. Соотношение форм минерального азота в «чистой» почве составляло 1:1,1, однако на фоне загрязнения нефтью оно менялось до 1:0,8 и 1:0,7, т.е. преимущественно уменьшалось содержание нитратного азота.

Внесение азотных удобрений в аммонийной форме практически не изменило соотношение  $N_{\text{NH}_4}:N_{\text{NO}_3}$ , в то время как применение нитрата калия повысило содержание нитратного азота в почве, изменив соотношение  $N_{\text{NH}_4}:N_{\text{NO}_3}$  в его сторону - 1:1,6-2.

### 3.1.3 Влияние минеральных удобрений на содержание подвижного фосфора в почве

#### Торфяная олиготрофная почва

*Влияние нефтезагрязнения.* Содержание подвижного фосфора снижалось на фоне загрязнения почв нефтью на всех вариантах опыта. Нефтезагрязненная почва содержала на 24-26% меньше подвижного фосфора по сравнению с незагрязненным контролем (рис. 9, табл. 9).



**Рисунок 9.** Содержание подвижного фосфора в торфяной олиготрофной почве, мг/кг (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

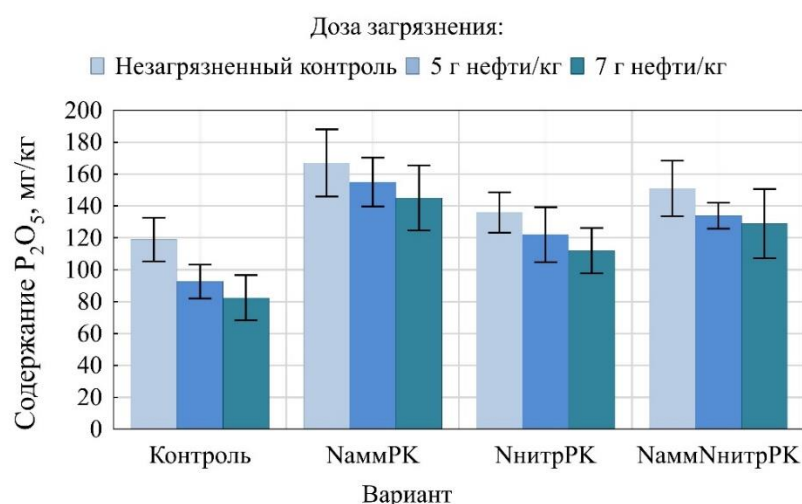
*Влияние удобрений.* В целом, применение удобрений позволило увеличить содержание подвижного фосфора в незагрязненной олиготрофной торфяной почве на 184-241%. Несмотря на то, что в исследовании использовались одинаковые формы и дозы фосфорных удобрений, они оказали различное воздействие на содержание подвижного фосфора в почве.

Содержание подвижного фосфора было максимальным при всех уровнях загрязнения в случае применения только нитратной формы азотных удобрений. При внесении аммонийной формы азота в вариантах «Намм» и «НаммNнитр» содержание подвижного фосфора было, как правило, ниже на 20-27% по сравнению с вариантами, где вносилась только нитратная форма азота.

Следует отметить также отсутствие тесной корреляционной связи между содержанием подвижного фосфора в почве и активностью фосфатазы ( $r = 0,51$ ). Это может свидетельствовать о том, что основной вклад в увеличение содержания подвижного фосфора в почве принадлежит именно агрохимическим средствам, а не является результатом минерализации органических соединений фосфора в почве.

### **Чернозем типичный**

*Влияние нефтезагрязнения.* В исследовании содержания подвижного фосфора на черноземе типичном также отмечено значимое негативное воздействие нефти, проявляющееся в снижении количества этого элемента в почве на всех вариантах опыта (рис. 10, табл. 10). На вариантах без применения удобрения почвы, загрязненные нефтью в дозе 5 г/кг, содержали на 22% меньше подвижного фосфора по сравнению с незагрязненным контролем, а почвы, загрязненные большей дозой нефти - на 31% меньше.



**Рисунок 10.** Содержание подвижного фосфора в черноземе типичном, мг/кг (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

*Влияние удобрений.* В результате применения удобрений содержание подвижного фосфора в незагрязненной почве увеличилось на 14-40%. Максимальное содержание этого элемента отмечено на варианте «КН + НаммРК».

На загрязненной почве действие удобрений было сильнее на варианте с меньшей дозой нефти (5 г/кг почвы) - содержание подвижного фосфора было выше на 4-6% по сравнению с вариантом с меньшей дозой загрязнения. Однако, статистически эти различия не значимы, и, согласно дисперсионному анализу, степень воздействия изучаемых доз загрязнения на содержание подвижного фосфора одинакова (табл. 15).

**Таблица 15.** Среднее содержание подвижного фосфора в черноземе типичном, мг/кг

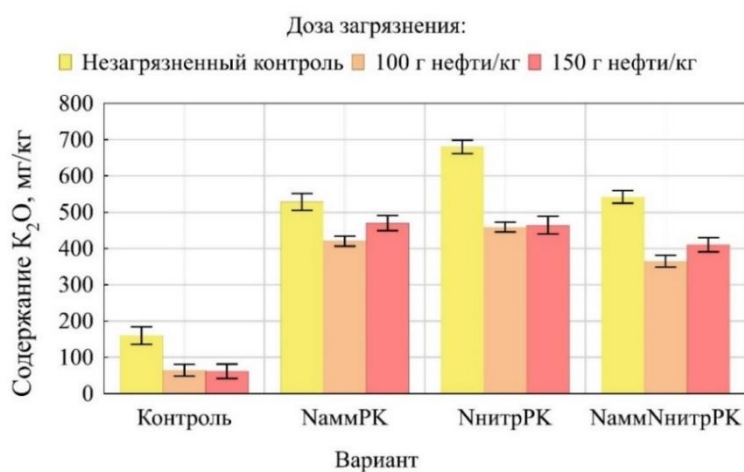
Форма удобрения - фактор В	Доза загрязнения - фактор А			НСР <sub>05</sub> В
	Контроль незагрязненный	5 г нефти/кг	7 г нефти/кг	
Контроль без удобрений	119	93	82	10,38
НаммРК	167	155	145	15,39
НнитрРК	136	122	112	11,91
НаммНнитрРК	151	134	129	13,47
НСР <sub>05</sub> А	11,61	9,31	12,61	

Статистически значимой взаимосвязи между исследуемыми факторами «доза загрязнения» ( $F = 50,8$ ,  $F_t = 2,31$ ) и «форма удобрения» ( $F = 128$ ,  $F_t = 2,31$ ) на содержание подвижного фосфора не обнаружено (табл. 10). При этом, более выражено действие удобрений, по сравнению с влиянием нефтезагрязнения.

### 3.1.4 Влияние минеральных удобрений на содержание обменного калия в почве

#### Торфяная олиготрофная почва

Динамика изменения содержания обменного калия в почве аналогична динамике изменения содержания подвижного фосфора (рис. 11, табл. 9).



**Рисунок 11.** Содержание обменного калия в олиготрофной торфяной почве, мг/кг (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

*Влияние нефтезагрязнения.* Нефтезагрязнение привело к значимому снижению содержания этого макроэлемента в олиготрофной торфяной почве - на 60% и 62% в тех вариантах, где не применялись удобрения. Степень воздействия исследуемых доз загрязнения, согласно дисперсионному анализу, можно считать одинаковой (табл. 16).

**Таблица 16.** Различия в содержании обменного калия в олиготрофной торфяной почве при применении минеральных форм удобрений на разных дозах загрязнения

Форма удобрения	Доза загрязнения	Среднее содержание К <sub>2</sub> О, мг/кг	Разница между дозами загрязнения мг/кг; %	НСР <sub>05</sub>
Контроль без удобрений	100 г нефти	64,4	-2,9 (-4,4%)	16,52
	150 г нефти	61,6		
НаммРК	100 г нефти	420,2	+49,8 (+11,8%)	15,86
	150 г нефти	470,0		
НнитрРК	100 г нефти	458,6	+5,4 (+1,2%)	15,72
	150 г нефти	464,1		
НаммNнитрРК	100 г нефти	365,2	+44,8 (+12,3%)	14,17
	150 г нефти	410,0		

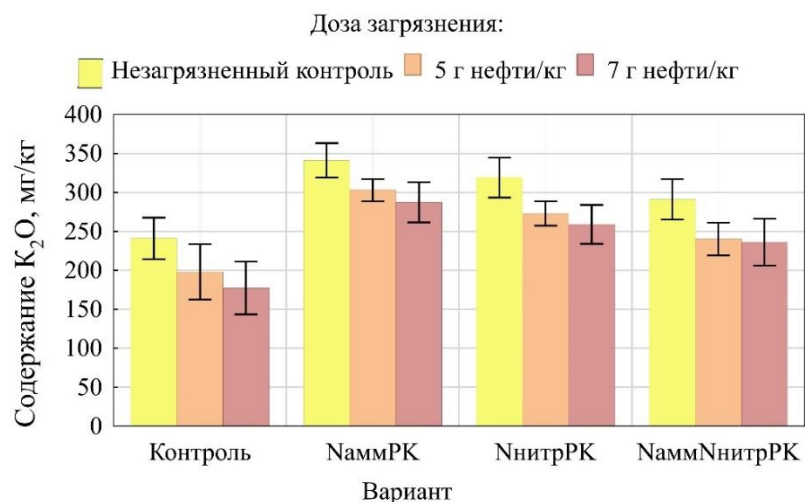
*Влияние удобрений.* На фоне применения удобрений, загрязнение нефтью в исследуемых дозах не оказало столь значительного влияния: содержание обменного калия в загрязненной почве снизилось на 11-33% по сравнению с незагрязненными вариантами.

Внесение удобрений на незагрязненном варианте привело к повышению содержания обменного калия на 230-325%. На загрязненных почвах действие удобрений было более значительным - содержание данного макроэлемента увеличилось на 467-664%.

При этом стоит отметить, что на удобренных вариантах, содержащих большую дозу загрязнения (150 г нефти/кг почвы), количество обменного калия было выше по сравнению с дозой 100 г нефти/кг почвы (табл. 16). В вариантах «НаммРК» и «НаммNнитрРК» обнаруживались различия между исследуемыми дозами загрязнения, что свидетельствует о повышении эффективности удобрений по отношению к содержанию обменного калия при увеличении дозы загрязнения в 1,5 раза.

### **Чернозем типичный**

Изменение содержания обменного калия в черноземе типичном характеризуется динамикой, аналогичной для подвижного фосфора (рис. 12, табл. 10).



**Рисунок 12.** Содержание обменного калия в черноземе типичном, мг/кг (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

*Влияние нефтязагрязнения.* Незагрязненная почва, на которой не применялись удобрения, показывает большее содержание обменного калия на 18% и 26% по сравнению с почвой загрязненной нефтью в дозе 5 г/кг и 7 г/кг соответственно (табл. 17). Значимые различия в воздействии двух доз загрязнения на содержание обменного калия не были обнаружены.

**Таблица 17.** Среднее содержание обменного калия в черноземе типичном, мг/кг

Форма удобрения - фактор В	Доза загрязнения - фактор А			НСР <sub>05</sub> В
	Контроль незагрязненный	100 г нефти/кг	150 г нефти/кг	
Контроль без удобрений	241	198	177	25,90
НаммРК	341	303	287	17,07
НнитрРК	319	273	259	18,18
НаммНнитрРК	291	240	236	20,94
НСР <sub>05</sub> А	17,71	16,24	20,22	

*Влияние удобрений.* Внесение удобрений оказало положительное влияние на динамику обменного калия в почве - его содержание увеличилось на 21-41%. На фоне применения удобрений повышение дозы загрязнения с 5 г/кг до 7 г/кг значимо не влияло на содержание обменного калия в почве.

Аналогично подвижному фосфору, содержание обменного калия было наибольшим при применении удобрения, содержащего азот в аммонийной форме («НаммРК»). Внесение данной формы азотного удобрения приводит к повышению содержания обменного калия на 41-62% по сравнению с контролем. Наименее эффективными оказались удобрений на варианте

«НамNнитрPK», содержание калия в почвах данного варианта составило 236-291 мг/кг, что в среднем на 10-20% ниже, чем содержание обменного калия при применении других удобрений.

### 3.1.5 Основные результаты

Влияние нефтезагрязнения выражается в снижении содержания основных макроэлементов в почвах. Данная закономерность прослеживается как для олиготрофной торфяной почвы, так и для чернозема типичного.

Во всех изученных почвах нефтезагрязнение оказало более сильное негативное влияние на содержание нитратного азота в почве, по сравнению с аммонийным азотом. Вероятнее всего, это связано с заметным ухудшением условий аэрации, преобладанием восстановительных процессов и как следствие общим снижением интенсивности процессов нитрификации в нефтезагрязненных почвах (Габбасова и др., 1997; Смирнова, Панина, 2015).

Содержание аммонийного и нитратного азота увеличивается в черноземе типичном и олиготрофной торфяной почве при внесении удобрений, содержащих соответствующие формы минерального азота. Отдельно отмечено, что содержание аммонийной и нитратной форм азота в почвах возрастало даже в тех случаях, когда применялись удобрения, не содержащие соответствующей формы азота. Наличие данного эффекта отмечено вне зависимости от присутствия загрязнения, однако, при нефтезагрязнении оно было не столь выражено. Это говорит о протекании в почве естественных процессов трансформации соединений азота, которые в нефтезагрязненных почвах зачастую ингибируются в той или иной степени (Габбасова и др., 1997; Смирнова, Панина, 2015; Назарюк, Калимуллина, 2020).

В исследуемых почвах отмечено отсутствие достоверной взаимосвязи между содержанием аммонийного азота в почве и активностью уреазы. Для торфяной олиготрофной почвы коэффициент корреляции составил 0,59, а для чернозема типичного  $r = 0,19$ , что статистически не значимо при уровне значимости 0,05. Активность уреазы тесно коррелирует с количеством аммонификаторов в почве в условиях нефтезагрязнения (Габбасова и др., 1997; Смирнова, Панина, 2015). Предположительно, активность аммонификаторов в данном исследовании не определяет содержание аммонийного азота в почве, а увеличение его количества может быть обусловлено, главным образом, действием применяемых удобрений.

Негативное влияние нефти также отражается в снижении содержания минерального азота в исследуемых почвах. Основываясь на литературных данных, можно предположить, что снижение количества минерального азота в нефтезагрязненных почвах связано с резким сужением C:N при попадании поллютанта в почву (Габбасова и др., 1997; Смирнова, Панина, 2015; Назарюк, Калимуллина, 2020). При этом активнее начинает использоваться азот внесенных минеральных удобрений, в первую очередь, более доступной его формы - нитратного азота. Это

подтверждается тем, что в нефтезагрязненных почвах изменяется соотношение  $N_{NH_4}:N_{NO_3}$  в сторону преобладания аммонийной формы азота.

Содержание подвижного фосфора и обменного калия также претерпевает значительные изменения под воздействием нефтезагрязнения. Содержание подвижного фосфора незагрязненной олиготрофной торфяной почвы по окончании опыта характеризовалось как низкое, а под воздействием нефти снизилось до уровня «очень низкое», согласно «Группировке торфяных почв по обеспеченности элементами минерального питания растений» (приложение 2). Внесение удобрений привело к повышению содержания этого элемента в торфяной почве до уровня «повышенный» в незагрязненных вариантах опыта и до уровня «средний» в загрязненных. Аналогичные градации и их динамика наблюдаются для содержания обменного калия в олиготрофной торфяной почве.

В черноземе типичном содержание подвижного фосфора в незагрязненной почве было значительно выше и характеризовалось как повышенное (приложение 4). Нефтезагрязнение также привело к снижению содержания фосфора на одну градацию, до среднего уровня. Применение удобрений позволило частично компенсировать негативное действие загрязнения и увеличить содержание подвижного фосфора до повышенного уровня в загрязненных вариантах. На незагрязненной почве в удобренных вариантах содержание подвижного фосфора характеризовалось как высокое. Содержание обменного калия на черноземе типичном было не столь сильно подвержено негативному действию нефти. В целом на всех вариантах опыта почва относилась к очень высокому уровню по содержанию обменного калия (приложение 5), за исключением варианта с максимальным загрязнением нефти без внесения удобрения, где почва соответствовала высокому содержанию обменного калия.

Между содержанием основных макроэлементов в почве (NPK) наблюдается сильная положительная корреляция, достоверная на уровне значимости 0,05. Для торфяной олиготрофной почвы она выражена значительно сильнее (табл. 18, табл. 19).

**Таблица 18.** Корреляционная матрица между основными макроэлементами в олиготрофной торфяной почве ( $n = 9$ )

	Содержание $N_{мин}$ , мг/кг	Содержание $P_2O_5$ , мг/кг	Содержание $K_2O$ , мг/кг
Содержание $N_{мин}$ , мг/кг		0,96*	0,96*
Содержание $P_2O_5$ , мг/кг			0,98*

\* коэффициенты корреляции значимы на уровне  $p < 0,01$

**Таблица 19.** Корреляционная матрица между основными макроэлементами в олиготрофной торфяной почве (n = 9)

	Содержание N <sub>мин</sub> , мг/кг	Содержание P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/кг	Содержание K <sub>2</sub> O, мг/кг
Содержание N <sub>мин</sub> , мг/кг		0,62*	0,74*
Содержание P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/кг			0,86*

\* коэффициенты корреляции значимы на уровне  $p < 0,01$

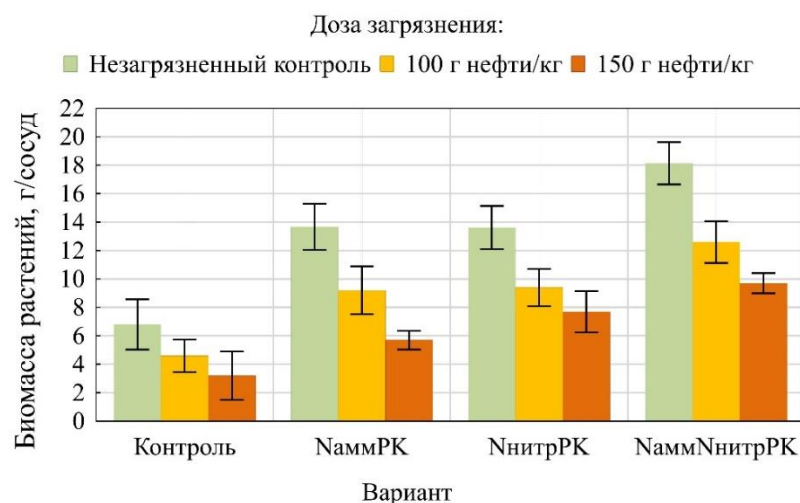
### 3.2 Влияние минеральных удобрений на рост и развитие трав-ремедиантов при нефтезагрязнении

Продуктивность и качественный состав трав-ремедиантов оценивались по окончании вегетационного опыта. Данные представляют собой средние за три вегетационных периода по три повторности в каждом году.

#### 3.2.1 Влияние минеральных удобрений на продуктивность растений

##### Торфяная олиготрофная почва

*Влияние нефтезагрязнения.* Анализ полученной в вегетационном опыте воздушно-сухой биомассы растений показал, что нефтезагрязнение оказывает значительное угнетающее воздействие на рост и развитие трав-ремедиантов на олиготрофной торфяной почве (рис. 13, табл. 20).



**Рисунок 13.** Надземная воздушно-сухая биомасса растений на олиготрофной торфяной почве, г/сосуд (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

На контрольной почве, в вариантах без внесения удобрений, на фоне нефтезагрязнения зафиксировано достоверно значимое снижение биомассы растений на 32-53% по сравнению с незагрязненным вариантом. Продуктивность растений снижалась по мере увеличения



остаточного содержания нефти в почве - отмечается наличие достоверной ( $p < 0,05$ ) отрицательной корреляции между этими параметрами ( $r = -0,66$ ).

**Таблица 20.** Результаты двухфакторного дисперсионного анализа надземной биомассы и содержания в ней основных макроэлементов по окончании вегетационного опыта на олиготрофной торфяной почве со взаимодействием (среднее  $\pm$  стандартное отклонение)

Вариант		Биомасса растений, г/сосуд	N, %	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , %	K <sub>2</sub> O, %
Контроль(КН)		6,8 $\pm$ 0,7	1,16 $\pm$ 0,08	0,42 $\pm$ 0,02	1,12 $\pm$ 0,07
КН + НаммРК		13,7 $\pm$ 0,7	1,26 $\pm$ 0,04	0,51 $\pm$ 0,04	1,57 $\pm$ 0,03
КН + НнитрРК		13,6 $\pm$ 0,6	1,24 $\pm$ 0,06	0,55 $\pm$ 0,02	1,58 $\pm$ 0,06
КН + НаммНнитрРК		18,1 $\pm$ 0,6	1,35 $\pm$ 0,06	0,59 $\pm$ 0,02	1,71 $\pm$ 0,08
Контроль + 100 г нефти		4,6 $\pm$ 0,5	1,11 $\pm$ 0,05	0,38 $\pm$ 0,02	1,21 $\pm$ 0,09
100 г нефти + НаммРК		9,2 $\pm$ 0,7	1,20 $\pm$ 0,07	0,48 $\pm$ 0,02	1,54 $\pm$ 0,03
100 г нефти + НнитрРК		9,4 $\pm$ 0,5	1,18 $\pm$ 0,06	0,52 $\pm$ 0,03	1,48 $\pm$ 0,06
100 г нефти + НаммНнитрРК		12,6 $\pm$ 0,6	1,24 $\pm$ 0,06	0,56 $\pm$ 0,01	1,62 $\pm$ 0,06
Контроль + 150 г нефти		3,2 $\pm$ 0,7	1,02 $\pm$ 0,05	0,30 $\pm$ 0,03	1,18 $\pm$ 0,07
150 г нефти + НаммРК		5,7 $\pm$ 0,3	1,12 $\pm$ 0,06	0,45 $\pm$ 0,02	1,38 $\pm$ 0,04
150 г нефти + НнитрРК		7,7 $\pm$ 0,6	1,10 $\pm$ 0,04	0,45 $\pm$ 0,01	1,45 $\pm$ 0,02
150 г нефти + НаммНнитрРК		9,7 $\pm$ 0,3	1,04 $\pm$ 0,06	0,50 $\pm$ 0,02	1,43 $\pm$ 0,05
Фактор А «Доза загрязнения»	F	393,5	29,6	53,9	25,7
	p	0,00	0,00	0,00	0,00
Фактор В «Форма удобрения»	F	346,4	6,5	114,4	67,9
	p	0,00	0,00	0,00	0,00
Взаимодействие факторов АВ	F	11,9	1,6	1,2	2,2
	p	0,00	0,19	0,35	0,07
F <sub>t</sub> = 2,31					

*Влияние удобрений.* Применение удобрений привело к значимому повышению биомассы растений (табл. 20). Прирост биомассы на «чистой» незагрязненной почве составил 100-167%. Максимальный прирост биомассы наблюдался на варианте «КН + НаммНнитрРК».

Негативное действие поллютанта на биомассу растений проявляется в значительной степени и на фоне оптимизации условий их питания (табл. 20). Прирост биомассы при применении удобрений на варианте с дозой загрязнения 100 г/кг составил 100-174%. Но

продуктивность растений на данной почве была на 31-33% ниже, чем в аналогичных незагрязненных вариантах. Сходная динамика наблюдались и на вариантах с дозой загрязнения 150 г/кг - биомасса растений увеличилась на 78-203% на фоне внесения удобрений, что было на 43-58% ниже, чем на аналогичных незагрязненных вариантах. Наибольшую продуктивность показали растения, произрастающие на нефтезагрязненной почве, в которую были внесены совместно нитратная и аммонийная формы азота («НаммNнитрPK»).

Менее выраженным было действие аммонийной и нитратной форм удобрений, внесенных по отдельности. Надземная биомасса при внесении только аммонийной или нитратной форм азота значимо не отличались на вариантах без загрязнения и на вариантах с дозой загрязнения 100 г/кг (табл. 21). При загрязнении нефтью в дозе 150 г/кг преимущество имела нитратная форма – биомасса трав при её внесении была на 35% выше, чем при внесении азота в аммонийной форме.

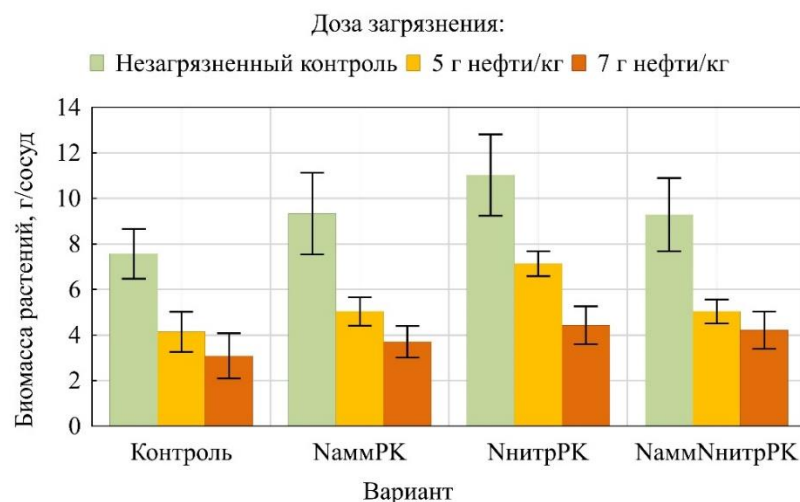
При исследовании продуктивности трав-ремедиантов на нефтезагрязненной почве было установлено наличие значимого совместного влияния загрязнения и вносимых удобрений (табл. 21). Так, на вариантах «НаммNнитрPK» и «NнитрPK» отклик исследуемого показателя оказался тем больше, чем выше была доза загрязнения. Для вариантов «НаммPK» наблюдался обратный эффект.

**Таблица 21.** Надземная биомасса растений на олиготрофной торфяной почве по окончании вегетационного опыта, г/сосуд (среднее)

Форма удобрения - фактор В	Доза загрязнения - фактор А			НСР <sub>05</sub> В
	Контроль незагрязненный	100 г нефти/кг	150 г нефти/кг	
Контроль без удобрений	6,80	4,60	3,20	1,25
НаммPK	13,76	9,20	5,70	1,13
NнитрPK	13,61	9,40	7,70	1,15
НаммNнитрPK	18,14	12,60	9,70	1,02
НСР <sub>05</sub> А	1,12	1,00	0,85	

### **Чернозем типичный**

*Влияние нефтезагрязнения.* На незагрязненных вариантах, где не проводилось оптимизации условий питания растений, воздушно-сухая биомасса трав была на 83-146% выше по сравнению с аналогичными загрязненным вариантами (рис. 14, табл. 22).



**Рисунок 14.** Надземная воздушно-сухая биомасса растений на черноземе типичном, г/сосуд (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

Зависимость продуктивности растений от остаточного содержания нефти в почве отражается также в их высокой корреляционной связи ( $r = -0,91$ ), статистически подтвержденной на уровне значимости 0,05. Это говорит о непосредственном сильном влиянии уровня загрязнения на биомассу растений, произрастающих в условиях стресса.

**Таблица 22.** Результаты двухфакторного дисперсионного анализа надземной биомассы и содержания в ней основных макроэлементов после окончания вегетационного опыта на черноземе типичном со взаимодействием (среднее  $\pm$  стандартное отклонение)

Вариант	Биомасса растений, г/сосуд	N, %	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , %	K <sub>2</sub> O, %
Контроль (КН)	7,6 $\pm$ 0,4	1,89 $\pm$ 0,13	0,28 $\pm$ 0,02	1,21 $\pm$ 0,08
КН + НаммРК	9,3 $\pm$ 0,7	2,34 $\pm$ 0,16	0,32 $\pm$ 0,02	1,63 $\pm$ 0,08
КН + НнитрРК	11,0 $\pm$ 0,7	2,80 $\pm$ 0,10	0,43 $\pm$ 0,02	1,94 $\pm$ 0,07
КН + НаммНнитрРК	9,3 $\pm$ 0,7	2,45 $\pm$ 0,15	0,44 $\pm$ 0,02	1,56 $\pm$ 0,07
Контроль + 5 г нефти	4,1 $\pm$ 0,4	1,49 $\pm$ 0,17	0,23 $\pm$ 0,02	1,07 $\pm$ 0,03
5 г нефти + НаммРК	5,0 $\pm$ 0,3	1,89 $\pm$ 0,15	0,30 $\pm$ 0,03	1,51 $\pm$ 0,07
5 г нефти + НнитрРК	7,1 $\pm$ 0,2	2,49 $\pm$ 0,13	0,38 $\pm$ 0,02	1,72 $\pm$ 0,06
5 г нефти + НаммНнитрРК	5,0 $\pm$ 0,2	1,74 $\pm$ 0,13	0,35 $\pm$ 0,02	1,46 $\pm$ 0,05
Контроль + 7 г нефти	3,1 $\pm$ 0,4	1,23 $\pm$ 0,18	0,20 $\pm$ 0,01	1,00 $\pm$ 0,03
7 г нефти + НаммРК	3,7 $\pm$ 0,3	1,77 $\pm$ 0,15	0,24 $\pm$ 0,03	1,32 $\pm$ 0,06
7 г нефти + НнитрРК	4,4 $\pm$ 0,3	2,20 $\pm$ 0,15	0,29 $\pm$ 0,02	1,44 $\pm$ 0,06
7 г нефти + НаммНнитрРК	4,2 $\pm$ 0,3	1,65 $\pm$ 0,19	0,26 $\pm$ 0,01	1,26 $\pm$ 0,05

		Биомасса растений, г/сосуд	N, %	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , %	K <sub>2</sub> O, %
Фактор А «Доза загрязнения»	F	477,8	60,5	100,0	81,2
	p	0,00	0,00	0,00	0,00
Фактор В «Форма удобрения»	F	51,2	61,3	82,7	153,0
	p	0,00	0,00	0,00	0,00
Взаимодействие факторов АВ	F	4,2	1,1	5,2	2,53
	p	0,00	0,39	0,00	0,04
F <sub>t</sub> = 2,31					

*Влияние удобрений.* Внесение удобрений на незагрязненной почве повысило биомассу растений на 23-46%. Максимальная эффективность среди исследуемых форм удобрений оказалась на варианте «КН + НнитрРК». На данном варианте прирост биомассы был в 2 раза выше, чем на вариантах «КН + НаммРК» и «КН + НаммНнитрРК», интенсивность воздействия которых достоверно не различается.

Применение удобрений не позволило компенсировать негативное действие нефти на биомассу трав-ремедиантов. Влияние фактора «нефтезагрязнение» проявлялось значительно сильнее по сравнению с влиянием формы удобрения (табл. 22).

На вариантах «НаммРК», «НаммНнитрРК» биомасса растений была ниже на 46% на почвах с дозой загрязнения 5 г нефти/кг и на 55-60% на почвах с содержанием 7 г нефти/кг по сравнению с незагрязненным контролем. Используемые формы азотных удобрений оказывали одинаковое по интенсивности воздействие на продуктивность растений на нефтезагрязненном черноземе типичном (табл. 23).

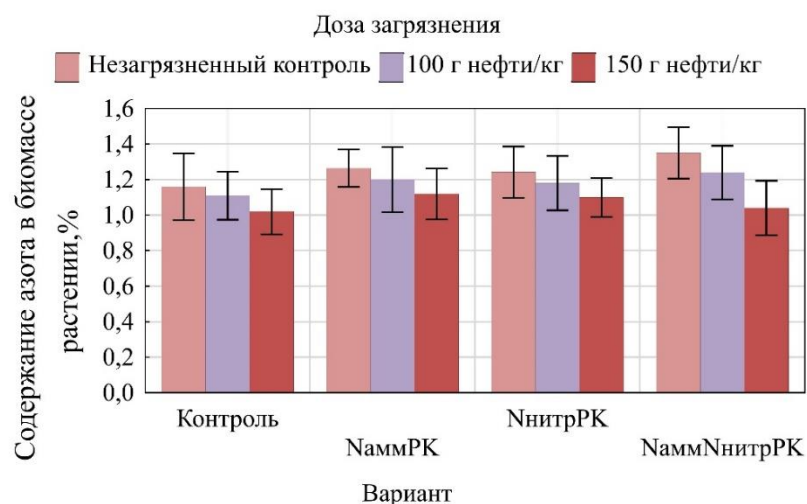
**Таблица 23.** Надземная биомасса растений на черноземе типичном, г/сосуд (среднее)

Форма удобрения - фактор В	Доза загрязнения - фактор А			НСР <sub>05</sub> В
	Контроль незагрязненный	5 г нефти/кг	7 г нефти/кг	
Контроль без удобрений	7,57	4,14	3,08	0,80
НаммРК	9,34	5,04	3,70	0,94
НнитрРК	11,03	7,14	4,43	0,95
НаммНнитрРК	9,29	5,04	4,22	0,81
НСР <sub>05</sub> А	1,12	0,46	0,59	

### 3.2.2 Влияние минеральных удобрений на содержание азота в надземной биомассе растений

#### Торфяная олиготрофная почва

Динамика изменения содержания азота в надземной биомассе растений, выращенных на олиготрофной торфяной почве, представлена на рисунке 15.



**Рисунок 15.** Содержание азота в надземной биомассе растений на олиготрофной торфяной почве, % (среднее  $\pm$  доверительный интервал)

*Влияние нефтезагрязнения.* Негативное действие поллютанта проявляется в изменении качественного состава растительности, произрастающей на загрязненной почве (табл. 20). Содержание азота в растениях на вариантах, содержащих нефть в дозе 150 г/кг, значительно снизилось на 12% по сравнению с контрольными незагрязненными вариантами. На почвах, загрязненных меньшим количеством нефти (100 г/кг), наблюдалось лишь небольшое снижение содержания азота в надземной биомассе злаковых трав - на 4% по сравнению с «чистым» контролем, которое было статистически незначимым (табл. 24).

**Таблица 24.** Среднее содержание азота в надземной биомассе растений на олиготрофной торфяной почве, %

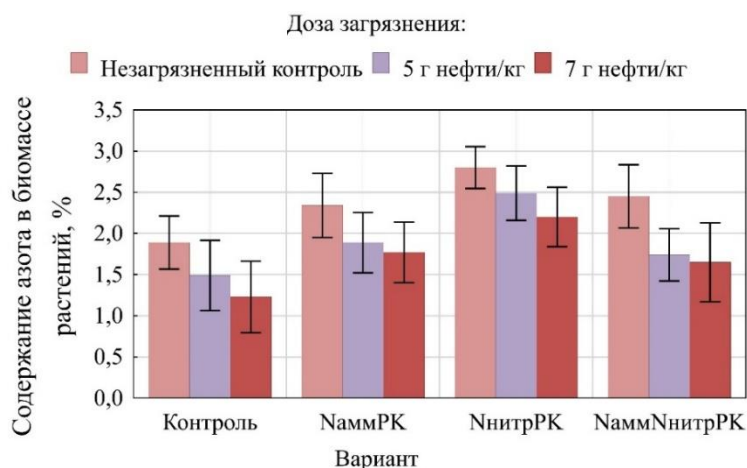
Форма удобрения - фактор В	Доза загрязнения - фактор А			НСР <sub>05</sub> В
	Контроль незагрязненный	100 г нефти/кг	150 г нефти/кг	
Контроль без удобрений	1,160	1,110	1,020	0,123
НаммРК	1,264	1,200	1,120	0,119
НнитрРК	1,242	1,180	1,100	0,110
НаммНнитрРК	1,350	1,240	1,040	0,220
НСР <sub>05</sub> А	0,080	0,110	F < F <sub>t</sub>	

*Влияние удобрений.* Внесение минеральных удобрений повлияло на содержание азота в биомассе трав-ремедиантов - его количество повысилось на 7-16%. Значимое действие удобрений отмечено только на вариантах «КН + НаммРК» и «КН + НаммNнитрРК».

На загрязненных почвах содержание исследуемого элемента повышается на всех вариантах с внесением удобрений. Содержание азота в растениях на вариантах с дозой загрязнения 100 г/кг было выше на 5-8%, а с дозой 150 г/кг - на 11-23%. Статистически значимые изменения отмечены только на варианте «100 г нефти + НаммNнитрРК». На почвах, загрязненных дозой поллютанта 150 г/кг, удобрения не оказали значимого влияния на содержание азота в растениях (табл. 24).

### **Чернозем типичный**

*Влияние нефтезагрязнения.* На содержание азота в растениях, произрастающих на нефтезагрязненном черноземе типичном, повлияли обе исследуемые дозы поллютанта (рис. 16, табл. 22). Содержание азота в надземной биомассе растений на почве, загрязненной 5 г нефти/кг почвы, было ниже на 21% по сравнению с растениями на незагрязненной контрольной почве. Доза поллютанта 7 г/кг привела к большему снижению содержания азота - на 35%.



**Рисунок 16.** Содержание азота в надземной биомассе растений на черноземе типичном, % (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

Однако, несмотря на разницу в содержании азота в биомассе трав-ремедиантов между вариантами «5 г нефти» и «7 г нефти», статистические различия оказались незначимы (табл. 25). Следовательно, действие разных доз загрязнения различалось на уровне тенденции.

**Таблица 25.** Среднее содержание азота в надземной биомассе растений на черноземе типичном, %

Форма удобрения - фактор В	Доза загрязнения - фактор А			НСР <sub>05</sub> В
	Контроль незагрязненный	5 г нефти/кг	7 г нефти/кг	
Контроль без удобрений	1,89	1,49	1,23	0,32
НаммРК	2,34	1,89	1,77	0,30
НнитрРК	2,80	2,49	2,20	0,30
НаммНнитрРК	2,45	1,74	1,65	0,32
НСР <sub>05</sub> А	0,240	0,27	0,29	

*Влияние удобрений.* Внесение удобрений привело к значимому повышению содержания азота в растениях (табл. 22), наиболее заметно на варианте «НнитрРК». В целом, повышение количества азота в биомассе трав на незагрязненной почве составило 24-48% на фоне применения минеральных удобрений.

На загрязненной почве удобрения, содержащие аммонийный и аммонийно-нитратный азот, показали равную эффективность, содержание азота в растениях данных вариантов соответствовало уровню незагрязненного контроля без удобрений.

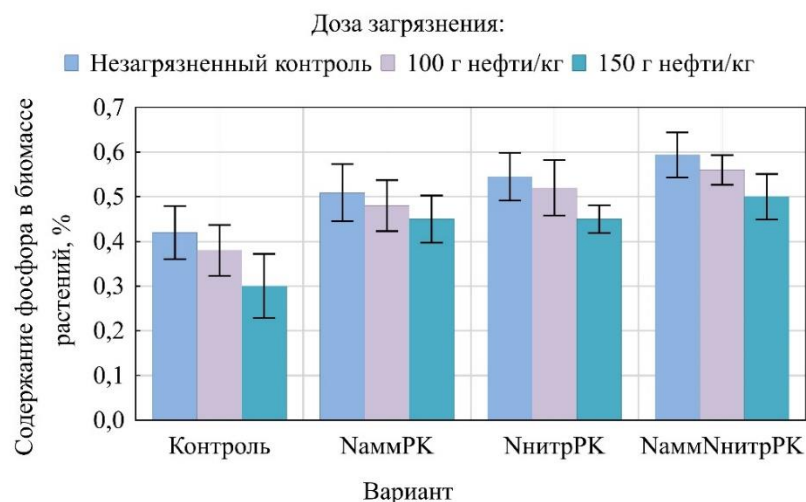
Наибольшее накопление азота в растениях обеспечивало применение удобрений, содержащих нитратный азот. Его содержание было выше на 48-79% по сравнению с контролем без удобрений. На этом фоне влияние доз загрязнения проявлялось в меньшей степени.

### **3.2.3 Влияние минеральных удобрений на содержание фосфора в надземной биомассе растений**

#### **Торфяная олиготрофная почва**

*Влияние нефтезагрязнения.* На незагрязненных почвах отмечается более высокое содержание фосфора в биомассе злаковых трав (рис. 17, табл. 20).

Содержание фосфора в биомассе растений-ремедиантов, выращенных на нефтезагрязненных почвах, снижалось на 10-29% под действием поллютанта. В отличие от азота, на содержание фосфора в растениях влияли обе изучаемые дозы нефти - 100 г/кг и 150 г/кг. При возрастании загрязнения содержание фосфора прогрессивно снижалось. В растениях, произрастающих на почве, загрязненной нефтью в дозе 100 г/кг, оно было на 21% выше по сравнению с дозой 150 г/кг.



**Рисунок 17.** Содержание фосфора в надземной биомассе растений на олиготрофной торфяной почве, % (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

*Влияние удобрений.* Внесение удобрений в целом улучшало качественный состав надземной биомассы растений на незагрязненной почве, значительно увеличивая содержание фосфора на 21-41% (табл. 20).

На нефтезагрязненных почвах наблюдалась аналогичная динамика, но интенсивность воздействия удобрений в данных вариантах была выше. Содержание фосфора в биомассе увеличивалось на 26-47% на варианте с дозой загрязнения 100 г/кг и на 50-67% на варианте с дозой нефти 150 г/кг. Помимо этого, на фоне применения минеральных удобрений, различия между дозами загрязнения становились менее выраженными: содержание фосфора в растениях, произрастающих в условиях повышенной обеспеченности элементами минерального питания, отличались на 6-13% по сравнению с 21% на контроле без удобрений (табл. 26).

**Таблица 26.** Различия в содержании фосфора в биомассе растений на олиготрофной торфяной почве при применении минеральных форм удобрений для разных доз загрязнения

Форма удобрения	Доза загрязнения	Среднее содержание $P_2O_5$ , %	Разница между дозами загрязнения, абс.(отн.), %
Контроль без удобрений	100 г нефти	0,38	-0,08 (-21%)
	150 г нефти	0,30	
НаммРК	100 г нефти	0,48	-0,03 (-6%)
	150 г нефти	0,45	
НнитрРК	100 г нефти	0,52	-0,07 (-13%)
	150 г нефти	0,45	
НаммНнитрРК	100 г нефти	0,56	-0,06 (-11%)
	150 г нефти	0,50	



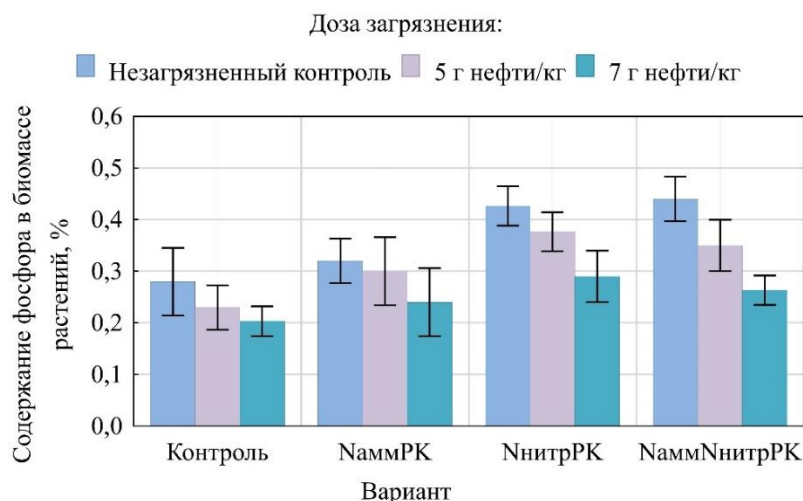
Несмотря на то, что содержание фосфора в растениях на варианте «NнитрPK» было несколько выше, чем на варианте «НаммPK», различия оставались статистически незначимыми и сравниваемые формы удобрений обладали одинаковой эффективностью действия по отношению к содержанию фосфора в надземной биомассе растений (табл. 27). Максимальное содержание фосфора в растениях достигалось при применении аммонийно-нитратной формы азотных удобрений для обоих уровней загрязнения почв нефтью.

**Таблица 27.** Среднее содержание фосфора в надземной биомассе растений на олиготрофной торфяной почве, %

Форма удобрения - фактор В	Доза загрязнения - фактор А			НСР <sub>05</sub> В
	Контроль незагрязненный	100 г нефти/кг	150 г нефти/кг	
Контроль без удобрений	0,420	0,380	0,300	0,051
НаммPK	0,509	0,480	0,450	0,030
NнитрPK	0,545	0,520	0,450	0,041
НаммNнитрPK	0,549	0,560	0,500	0,037
НСР <sub>05</sub> А	0,040	0,040	0,037	

### Чернозем типичный

*Влияние нефтезагрязнения* на черноземе типичном проявляется в снижении содержания фосфора в биомассе злаковых трав (рис. 18, табл. 22).



**Рисунок 18.** Содержание фосфора в надземной биомассе растений на черноземе типичном, % (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

Надземная биомасса растений, выращенных на загрязненном черноземе типичном, содержала на 18-29% меньше фосфора в тех случаях, когда не использовались минеральные удобрения. Негативное действие нефти проявляется на обеих исследуемых дозах загрязнения

(табл. 28), при росте дозы загрязнения содержание фосфора в биомассе растений снижалось. Это подтверждается значимо ( $p < 0,05$ ) высоким значением коэффициента корреляции  $r = -0,65$  между содержанием фосфора в надземной биомассе и остаточным содержанием нефти в черноземе типичном.

**Таблица 28.** Среднее содержание фосфора в надземной биомассе растений на черноземе типичном, %

Форма удобрения - фактор В	Доза загрязнения - фактор А			НСР <sub>05</sub> В
	Контроль незагрязненный	100 г нефти/кг	150 г нефти/кг	
Контроль без удобрений	0,28	0,23	0,20	0,03
НаммРК	0,32	0,30	0,24	0,02
НнитрРК	0,43	0,38	0,29	0,03
НаммНнитрРК	0,44	0,35	0,26	0,03
НСР <sub>05</sub> А	0,03	0,03	0,03	

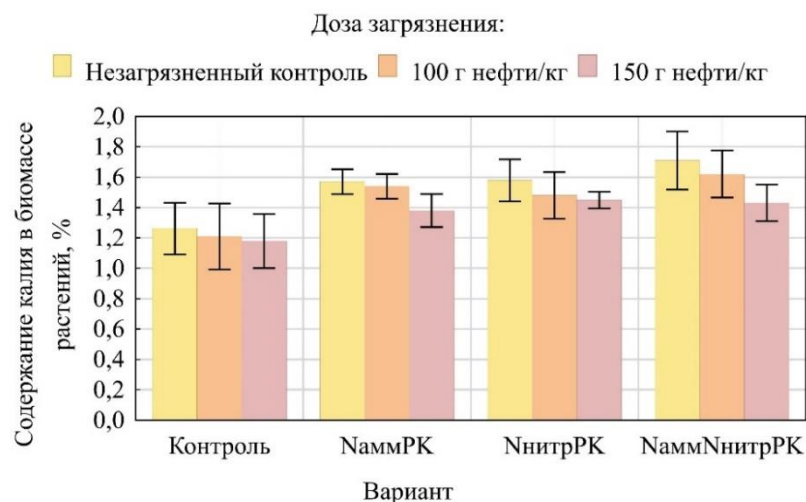
*Влияние удобрений.* При оптимизации условий питания трав-ремедиантов содержание фосфора в них возрастало на 14-57% на незагрязненных почвах. На фоне применения удобрений содержание фосфора в биомассе растений на нефтезагрязненных почвах повысилось на 30-65% на вариантах с дозой поллютанта 5 г/кг и на 20-45% на вариантах с большей дозой загрязнения.

Наибольшее содержание фосфора в биомассе растений наблюдалось на вариантах «НнитрРК» и «НаммНнитрРК». Эффективность действия данных форм удобрений на содержание фосфора значимо не отличалось между собой (табл. 28). Действие фактора «доза нефтезагрязнения» ( $F = 100$ ,  $F_t = 2,31$ ) оказалось сильнее, чем воздействие фактора «форма удобрения» ( $F = 82,7$ ,  $F_t = 2,31$ ). Также имеется совместное влияние дозы загрязнения и формы удобрения на содержание фосфора в надземной биомассе растений ( $F = 5,2$ ,  $F_t = 2,31$ ), наличие которого выявлено с помощью дисперсионного анализа (табл. 22). Однако, совместное действие исследуемых факторов выражено незначительно по сравнению с их отдельным влиянием.

### **3.2.4 Влияние минеральных удобрений на содержание калия в надземной биомассе растений**

#### **Торфяная олиготрофная почва**

*Влияние нефтезагрязнения* отмечено для всех изучаемых макроэлементов в растении, в том числе - калия (рис. 19, табл. 20). На загрязненной олиготрофной торфяной почве биомасса растений содержала на 4-6% меньше калия, чем на почве, незагрязненной нефтью.



**Рисунок 19.** Содержание калия в надземной биомассе растений на олиготрофной торфяной почве, % (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

На содержание этого макроэлемента в биомассе растений на вариантах без применения удобрений повлияли обе дозы загрязнения. Чем больше была доза загрязнения, тем интенсивнее был эффект от ее воздействия.

*Влияние удобрений.* Внесение удобрений оказало положительное воздействие на содержание калия в биомассе растений, увеличивая его на 24-35% на незагрязненных почвах и на 17-34% на загрязненных. Согласно дисперсионному анализу, влияние всех используемых минеральных удобрений можно считать равно эффективным (табл. 29).

**Таблица 29.** Среднее содержание калия в надземной биомассе растений на олиготрофной торфяной почве, %

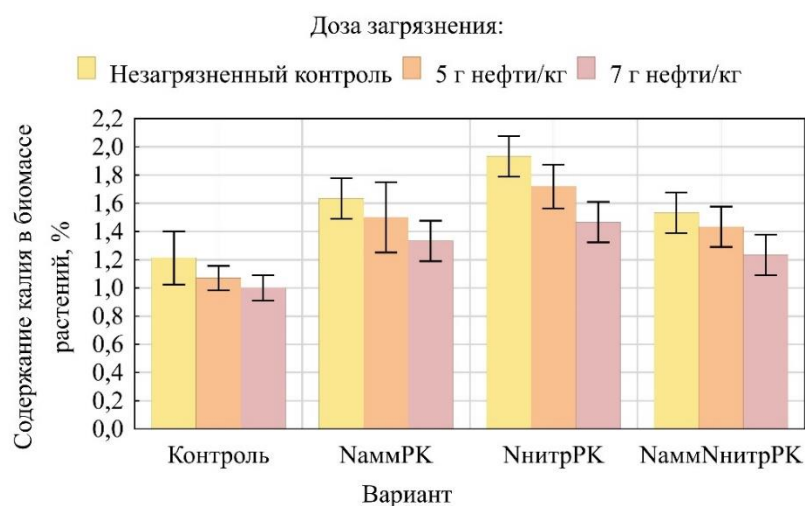
Форма удобрения - фактор В	Доза загрязнения - фактор А			НСР <sub>05</sub> В
	Контроль незагрязненный	100 г нефти/кг	150 г нефти/кг	
Контроль без удобрений	1,262	1,210	1,180	0,028
НаммПК	1,570	1,540	1,380	0,074
НнитрПК	1,580	1,480	1,450	0,030
НаммНнитрПК	1,710	1,620	1,430	0,128
НСР <sub>05</sub> А	0,144	0,140	0,087	

При применении удобрений изменялись наблюдаемые ранее в варианте «КН» эффекты от воздействия нефтезагрязнения на содержание калия в биомассе растений. Так, на вариантах «НаммПК» и «НаммНнитрПК» негативное влияние загрязнения в дозе 100 г/кг отсутствовало. Значимые изменения в данных вариантах наблюдались только при повышении загрязнения в 1,5 раза.

## Чернозем типичный

Влияние нефтезагрязнения. Использование двухфакторного дисперсионного анализа позволило продемонстрировать наличие значимого негативного эффекта нефтезагрязнения на содержание калия в надземной биомассе злаковых трав (табл. 22, рис. 20).

Содержание калия в растениях на нефтезагрязненной почве снижалось на 12 и 17% под действием доз загрязнения 5 и 7 г/кг, соответственно. Доза загрязнения 7 г/кг оказала значимо более сильный эффект по сравнению с меньшей.



**Рисунок 20.** Содержание калия в надземной биомассе растений на черноземе типичном, % (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

*Влияние удобрений.* Оптимизация условий питания растений с помощью минеральных удобрений позволила увеличить в них содержание калия (табл. 22): на 26-61% по сравнению с неудобренным контролем. Следует отметить, что при загрязнении почвы нефтью в дозе 5 г/кг эффективность действия удобрений была сходна с эффективностью на контроле. На фоне большей дозы загрязнения (7 г/кг) эффективность минеральных удобрений снижалась на 13-16% по сравнению с дозой нефти 5 г/кг.

Значительнее всего содержание калия в растениях увеличивалось при применении минеральных удобрений в варианте «NнитроPK», действие остальных форм применяемых удобрений значимо отличалось от контроля, при равном сравнительном эффекте (табл. 30).

**Таблица 30.** Среднее содержание калия в надземной биомассе растений на черноземе типичном, %

Форма удобрения - фактор В	Доза загрязнения - фактор А			НСР <sub>05</sub> В
	Контроль незагрязненный	100 г нефти/кг	150 г нефти/кг	
Контроль без удобрений	1,12	1,07	1,00	0,07
НаммРК	1,63	1,51	1,32	0,12
НнитрРК	1,94	1,72	1,44	0,13
НаммНнитрРК	1,56	1,46	1,26	0,11
НСР <sub>05</sub> А	0,13	0,10	0,09	

### 3.2.5 Основные результаты

Снижение продуктивности растений, произрастающих в условиях загрязнения - наиболее часто диагностируемый результат действия нефти и нефтепродуктов (Фахрутдинов, 2005; Суслонов, 2012а, 2012б; Yan et al., 2015; Xie et al., 2018).

В нашем исследовании отмечено значительное негативное воздействие загрязнения на продуктивность трав-ремедиантов как на торфяной олиготрофной почве, так и на черноземе типичном. Все исследуемые дозы загрязнения оказали значимое влияние на данный показатель. По мере роста дозы загрязнения сильнее проявлялись негативные свойства.

Легкие и токсичные для растений фракции нефти в почве практически отсутствовали. В связи с этим, действие нефти на продуктивность трав-ремедиантов, вероятнее всего, было связано с изменением физико-химических условий среды под влиянием поллютанта. Подобный эффект часто отмечается в научных исследованиях (Киреева и др., 2009; Soleimani et al., 2010; Кольцова и др., 2014). Изменение физико-химических свойств почвы под действием загрязнения приводит к ухудшению условий питания растений, снижая доступность элементов минерального питания вследствие обволакивания почвенных частиц нефтяными пленками, препятствующими переходу питательных веществ в почвенный раствор (Хазиев, 1988; Исмаилов, 1988).

Механизм подобных изменений может быть также связан с деятельностью микроорганизмов в почве. Увеличение соотношения С:N при попадании нефти в почву приводит к иммобилизации элементов минерального питания растений, делая их недоступными для растений (Xu, Johnson, 1997).

В нашем исследовании установлена достоверная положительная корреляция между содержанием в почве основных макроэлементов и продуктивностью трав-ремедиантов (табл. 31). На торфяной олиготрофной почве отмечена тесная взаимосвязь между биомассой растений и содержанием питательных элементов в почве в 7 из 8 случаев сравнения. Наиболее тесная связь

получена с содержанием нитратной формы азота. Это может свидетельствовать о прямой зависимости продуктивности растений от условий их питания в почве.

**Таблица 31.** Коэффициенты корреляции между агрохимическими показателями почв и продуктивностью растений (n = 9)

	Надземная биомасса растений, г/сосуд	
	Олиготрофная торфяная почва	Чернозем типичный
Содержание N-NH <sub>4</sub> в почве, мг/кг	0,77*	0,37
Содержание N-NO <sub>3</sub> в почве, мг/кг	0,81*	0,74*
Содержание P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> в почве, мг/кг	0,76*	0,50*
Содержание K <sub>2</sub> O в почве, мг/кг	0,73*	0,67*

\* коэффициенты корреляции значимы на уровне  $p < 0,01$

Растения, произрастающие на черноземе типичном, по-видимому, в меньшей степени зависели от условий минерального питания в почве. В исследовании, проводимом на почве данного типа, также обнаружилось наличие зависимостей между агрохимическими свойствами почв и биомассой растительности (табл. 31). Однако, корреляция между этими показателями была менее тесной, чем на олиготрофной торфяной почве. Наиболее тесная взаимосвязь также отмечена между биомассой и содержанием нитратного азота в черноземе типичном.

Внесение в почву минеральных удобрений и, как следствие, улучшение условий питания растений закономерно приводило к повышению биомассы растений, что продемонстрировано полученными в ходе исследования данными. При этом, хотя с помощью вносимых форм удобрений не удалось в полной мере компенсировать действие нефти по отношению к биомассе растений, тем не менее, полученные результаты подтверждают высокую эффективность их применения на всех исследованных почвах и на всех дозах загрязнения.

Изучение динамики содержания основных макроэлементов в биомассе растений позволило установить наличие негативного влияния нефтезагрязнения не только на общую продуктивность растений, но и на изменение качественного состава растений. Содержание азота, фосфора и калия претерпело значительные изменения под действием поллютанта. Данная закономерность обнаруживалась на обоих типах почв.

Увеличение биомассы растений происходит одновременно с улучшением ее качественного состава, что подтверждается высокой положительной корреляцией между продуктивностью растений и содержанием в них азота, фосфора и калия (табл. 32). Это свидетельствует о важности создания благоприятного агрохимического фона, максимально сбалансированного с точки зрения количества и форм элементов минерального питания, особенно в условия стресса.

**Таблица 32.** Коэффициенты корреляции между продуктивностью (биомассой) растений и содержанием в них основных макроэлементов (NPK) (n = 9)

	Надземная воздушно-сухая биомасса растений, г/сосуд	
	Олиготрофная торфяная почва	Чернозем типичный
Содержание N в надземной биомассе растений, %	0,78*	0,81*
Содержание P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> в надземной биомассе растений, %	0,88*	0,79*
Содержание K <sub>2</sub> O в надземной биомассе растений, %	0,88*	0,74*

\* коэффициенты корреляции значимы на уровне  $p < 0,01$

В нашем исследовании также выявлена стабильная связь между содержанием макроэлементов в растениях и их содержанием в почве (табл. 33). Чем больше было остаточное содержание макроэлемента в почве, тем выше оказалось его содержание в надземной биомассе растений.

**Таблица 33.** Коэффициенты корреляции между агрохимическими свойствами почв и содержанием надземной биомассе растений основных макроэлементов (NPK) (n = 9)

Почва	Олиготрофная торфяная			Чернозем типичный		
	Содержание элементов в надземной биомассе растений			Содержание элементов в надземной биомассе растений		
	N, %	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , %	K <sub>2</sub> O, %	N, %	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , %	K <sub>2</sub> O, %
Содержание N <sub>мин</sub> в почве, мг/кг	0,62*	0,87*	0,88*	0,86*	0,88*	0,91*
Содержание P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> в почве, мг/кг	0,54*	0,77*	0,87*	0,50*	0,51*	0,60*
Содержание K <sub>2</sub> O в почве, мг/кг	0,51*	0,79*	0,80*	0,75*	0,50*	0,81*

\* коэффициенты корреляции значимы на уровне  $p < 0,01$

Наиболее тесная взаимосвязь содержания азота, фосфора и калия наблюдалась с содержанием минерального азота в почве.

### **3.3 Влияние минеральных удобрений на ферментативную активность почвы при нефтезагрязнении**

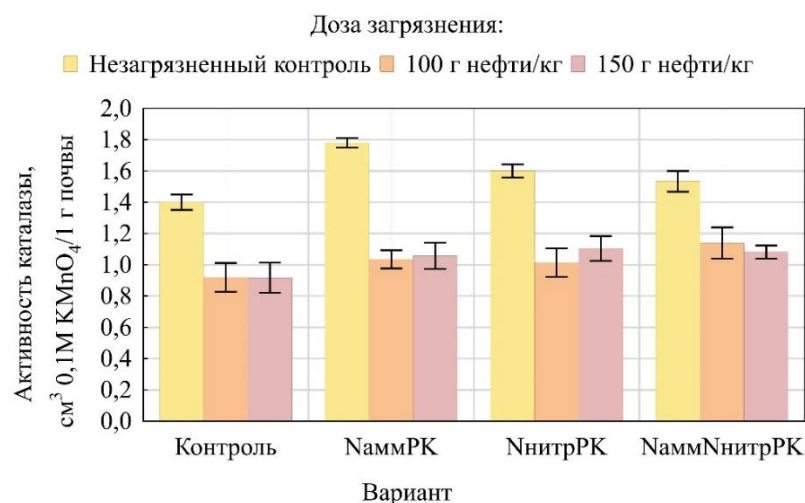
#### **3.3.1 Влияние минеральных удобрений на активность каталазы в почве**

Каталаза - фермент класса оксидоредуктаз, участвующий в процессе распада пероксидов на воду и молекулярный кислород, а также влияющий на кислородный баланс в почве. Полученный в результате разложения токсичного для организмов пероксида водорода кислород потребляется

микроорганизмами, которые играют важную роль в процессе разложения нефти и нефтепродуктов в почве (Исмаилов, 1988). Активность этого фермента часто используется как критерий способности почвы к самоочищению от нефтезагрязнения (Сулейманов, Назырова, 2007; Новоселова, 2008; Смирнова, Панина, 2015; Сергатенко и др., 2022).

### Торфяная олиготрофная почва

Изменение каталазной активности на нефтезагрязненной олиготрофной торфяной почве показано на рисунке 21.



**Рисунок 21.** Активность каталазы в олиготрофной торфяной почве, см<sup>3</sup> 0,1М КМnO<sub>4</sub>/1 г почвы (среднее ± 95% доверительный интервал)

*Влияние нефтезагрязнения.* Наличие загрязнения значительно снизило активность данного фермента в 1-1,5 раза на вариантах без применения удобрений (табл. 34).

**Таблица 34.** Результаты двухфакторного дисперсионного анализа ферментативной активности олиготрофной торфяной почвы со взаимодействием (среднее ± ст. отклонение)

Вариант	Активность каталазы, см <sup>3</sup> 0,1М КМnO <sub>4</sub> /1 г почвы	Активность уреазы, мг N-NH <sub>4</sub> /10 г почвы	Активность фосфатазы, мг P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> /100 г почвы
КН	1,40 ± 0,02	27,6 ± 2,0	11,6 ± 0,2
КН + НаммРК	1,78 ± 0,01	52,0 ± 0,7	12,5 ± 0,1
КН + НнитрРК	1,60 ± 0,02	36,4 ± 1,7	12,1 ± 0,4
КН + НаммНнитрРК	1,53 ± 0,03	56,4 ± 0,9	13,0 ± 0,1
100 г нефти	0,92 ± 0,04	24,1 ± 1,8	8,2 ± 0,1
100 г нефти + НаммРК	1,03 ± 0,02	26,0 ± 1,7	8,4 ± 0,2
100 г нефти + НнитрРК	1,01 ± 0,04	18,7 ± 0,9	7,7 ± 0,1



Вариант		Активность каталазы, $\text{см}^3 0,1\text{М KMnO}_4/1 \text{ г почвы}$	Активность уреазы, $\text{мг N-NH}_4/10 \text{ г почвы}$	Активность фосфатазы, $\text{мг P}_2\text{O}_5/100 \text{ г почвы}$
100 г нефти + НаммNнитрPK		1,14 ± 0,04	21,5 ± 0,8	9,8 ± 0,2
150 г нефти		0,92 ± 0,04	20,6 ± 1,0	8,1 ± 0,4
150 г нефти + НаммPK		1,06 ± 0,03	18,3 ± 1,7	8,3 ± 0,4
150 г нефти + NнитрPK		1,10 ± 0,03	14,4 ± 1,2	8,4 ± 0,1
150 г нефти + НаммNнитрPK		1,08 ± 0,02	19,1 ± 1,7	9,0 ± 0,4
Фактор А «Доза загрязнения»	F	1379,2	1050,7	770,3
	p	0,00	0,00	0,00
Фактор В «Форма удобрения»	F	91,3	109,8	42,2
	p	0,00	0,00	0,00
Взаимодействие факторов АВ	F	24,3	91,4	5,7
	p	0,00	0,00	0,00
$F_t = 2,53$				

По интенсивности воздействия на работу фермента исследуемые дозы загрязнения значимо между собой не отличались (рис. 21, табл. 35).

**Таблица 35.** Активность каталазы в олиготрофной торфяной почве,  $\text{см}^3 0,1\text{М KMnO}_4/1 \text{ г почвы}$  (среднее)

Форма удобрения - фактор В	Доза загрязнения - фактор А			НСР <sub>05</sub> В
	Контроль незагрязненный	100 г нефти/кг	150 г нефти/кг	
Контроль без удобрений	1,40	0,92	0,92	0,07
НаммPK	1,78	1,03	1,06	0,05
NнитрPK	1,60	1,01	1,10	0,10
НаммNнитрPK	1,53	1,14	1,08	0,06
НСР <sub>05</sub> А	0,03	0,06	0,05	

*Влияние удобрений.* На незагрязненной почве на фоне применения минеральных удобрений активность каталазы в олиготрофной торфяной почве значимо повысилась на 10-27%. Максимально высокий уровень активности данного фермента наблюдался на варианте «НаммPK».

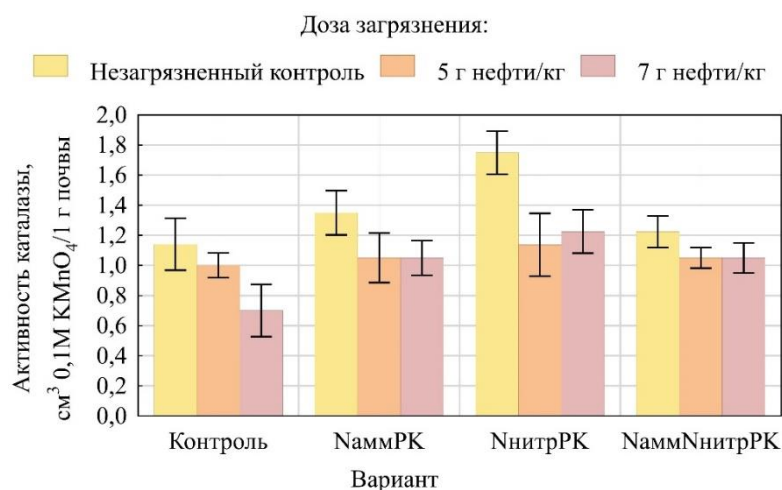
В нефтезагрязненных почвах внесение удобрений также оказало воздействие на каталазную активность в почве. По сравнению с неудобренным контролем активность этого фермента была выше на 10-24% на фоне применения удобрений. Однако, при этом не удалось компенсировать негативное влияние нефти, приводившее к 25-42% снижению активности. При применении удобрений различий в действии исследуемых доз загрязнения также не обнаруживается (табл. 35).

Даже при улучшении агрохимических свойств с помощью удобрений, нефтезагрязнение проявляло сильное негативное воздействие на работу каталазы в олиготрофной торфяной почве. Влияние загрязнителя оказалось значительно выше действия удобрений, что подтверждается значениями F критерия для каждого из факторов (табл. 34).

Интенсивность влияния различных доз поллютанта на активность каталазы значимо не отличалась, вне зависимости от того, применялись удобрения или нет. При этом наблюдалась тесная зависимость между активностью каталазы и остаточным содержанием нефти в почве, выраженная в высоком отрицательном коэффициенте корреляции ( $r = -0,90$ ,  $p < 0,01$ ).

### Чернозем типичный

*Влияние нефтезагрязнения.* Активность каталазы в значительной степени ингибировалась под действием поллютанта (рис. 22, табл. 36). Активность данного фермента в незагрязненной неудобренной почве была выше на 12 и 39% по сравнению с почвами, загрязненными нефтью в дозе 5 г/кг и 7 г/кг соответственно. При этом действие большей дозы загрязнения оказалось значимо интенсивнее меньшей (5 г нефти/кг). Обратная зависимость активности каталазы от дозы поллютанта также подтверждается корреляционным анализом ( $r = -0,67$ ,  $p < 0,01$ ).



**Рисунок 22.** Активность каталазы в черноземе типичном,  $\text{см}^3 0,1\text{M KMnO}_4/1 \text{ г почвы}$  (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

**Таблица 36.** Результаты двухфакторного дисперсионного анализа ферментативной активности чернозема типичного со взаимодействием (среднее  $\pm$  ст. отклонение)

Вариант		Активность каталазы, $\text{см}^3$ 0,1М $\text{KMnO}_4/1$ г почвы	Активность уреазы, мг $\text{N-NH}_4/10$ г почвы	Активность фосфатазы, мг $\text{P}_2\text{O}_5/100$ г почвы
КН		1,14 $\pm$ 0,07	29,1 $\pm$ 1,8	9,3 $\pm$ 0,7
КН + НаммРК		1,35 $\pm$ 0,06	42,9 $\pm$ 4,9	12,4 $\pm$ 0,4
КН + НнитрРК		1,75 $\pm$ 0,06	62,1 $\pm$ 1,6	10,9 $\pm$ 0,5
КН + НаммНнитрРК		1,23 $\pm$ 0,04	37,5 $\pm$ 4,8	11,4 $\pm$ 0,5
5 г нефти		1,00 $\pm$ 0,03	24,7 $\pm$ 1,2	7,1 $\pm$ 0,6
5 г нефти + НаммРК		1,05 $\pm$ 0,07	36,5 $\pm$ 1,9	10,5 $\pm$ 0,6
5 г нефти + НнитрРК		1,14 $\pm$ 0,08	48,4 $\pm$ 1,8	8,3 $\pm$ 0,5
5 г нефти + НаммНнитрРК		1,05 $\pm$ 0,03	27,7 $\pm$ 1,4	8,2 $\pm$ 0,6
7 г нефти		0,70 $\pm$ 0,07	17,9 $\pm$ 1,8	5,6 $\pm$ 0,4
7 г нефти + НаммРК		1,05 $\pm$ 0,05	25,1 $\pm$ 2,7	7,7 $\pm$ 0,6
7 г нефти + НнитрРК		1,23 $\pm$ 0,06	46,7 $\pm$ 1,4	6,0 $\pm$ 0,5
7 г нефти + НаммНнитрРК		1,05 $\pm$ 0,04	15,4 $\pm$ 2,4	6,0 $\pm$ 0,5
Фактор А «Доза загрязнения»	F	140,3	122,7	229,9
	p	0,00	0,00	0,00
Фактор В «Форма удобрения»	F	85,2	218,2	43,9
	p	0,00	0,00	0,00
Взаимодействие факторов АВ	F	15,3	4,5	1,9
	p	0,00	0,00	0,12
$F_t = 2,53$				

*Влияние удобрений.* Внесение удобрений на незагрязненной почве привело к повышению каталазной активности на 18% и 54% в вариантах «К + НаммРК» и «К + НнитрРК» соответственно. Действие удобрения, содержащего как аммонийную, так и нитратную форму азота (вариант «К + НаммНнитрРК») значимо не проявилось по отношению к активности каталазы. Максимальную эффективность на «чистой» почве обнаружил о применение нитратной формы азота.

При нефтезагрязнении действие удобрений несколько отличается. На варианте «5 г нефти» значимое изменение активности каталазы по сравнению с загрязненным контролем происходит

только на варианте «NнитрPK». На варианте «7 г нефти» на фоне дальнейшего снижения активности фермента в удобренной почве по сравнению с меньшим загрязнением влияние на работу каталазы в почве оказывают все исследуемые удобрения (табл. 37). Разная результативность удобрений в зависимости от дозы загрязнения проиллюстрирована в дисперсионном анализе - наблюдается наличие взаимодействия исследуемых факторов по отношению к активности каталазы в почве (табл. 36). При этом, влияние фактора «доза загрязнения» ( $F = 140,3$ ;  $F_t = 2,53$ ) оказывалось выше, чем фактор «форма удобрения» ( $F = 85,2$ ;  $F_t = 2,53$ ) и их взаимодействие ( $F = 15,3$ ;  $F_t = 2,53$ ).

**Таблица 37.** Активность каталазы в черноземе типичном,  $\text{см}^3$  0,1M  $\text{KMnO}_4$ /1 г почвы (среднее)

Форма удобрения - фактор В	Доза загрязнения - фактор А			НСР <sub>05</sub> В
	Контроль незагрязненный	5 г нефти/кг	7 г нефти/кг	
Контроль без удобрений	1,140	1,000	0,700	0,120
НаммPK	1,350	1,050	1,050	0,116
NнитрPK	1,750	1,138	1,225	0,136
НаммNнитрPK	1,225	1,050	1,050	0,074
НСР <sub>05</sub> А	0,101	0,140	0,096	

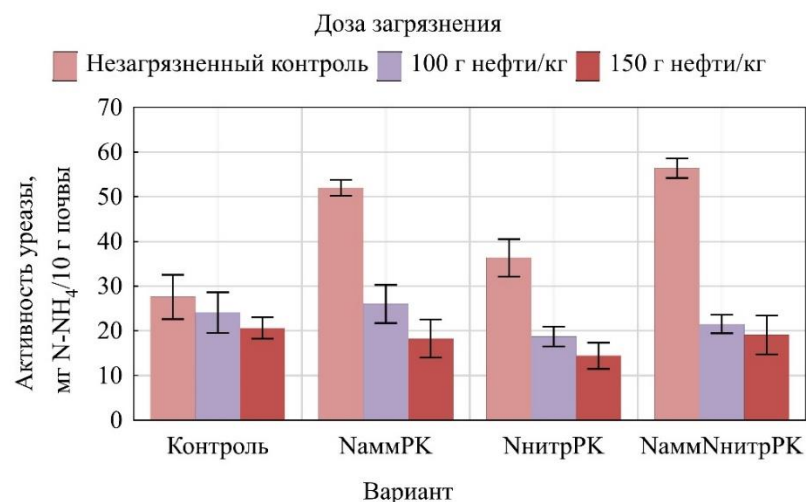
### 3.3.2 Влияние минеральных удобрений на активность уреазы в почве

Уреаза - фермент, участвующий в процессах разложения органических веществ, способствующий восстановлению почвы после загрязнения нефтью и нефтепродуктами. Измерение ее активности позволяет оценить процесс самовосстановления почвенной экосистемы, а также определить необходимость проведения рекультивации (Исмаилов, 1988; Киреева и др., 2001; Колесников и др., 2006).

#### Торфяная олиготрофная почва

*Влияние нефтезагрязнения.* Активность уреазы в нефтезагрязненной олиготрофной торфяной почве подавлялась на 13-25% на тех вариантах, где не производилась оптимизация агрохимических свойств олиготрофной торфяной почвы (рис. 23, табл. 34). Воздействие всех исследуемых доз загрязнения являлось достоверным (табл. 38).

*Воздействие удобрений* на незагрязненных почвах проявилось в значительной степени на всех вариантах опыта (табл. 38). Активность уреазы возросла на 88-104% в вариантах, где применялись удобрения, содержащие аммонийную форму азота - варианты «НаммPK» и «НаммNнитрPK». Удобрение, содержащее только нитратный азот (вариант «NнитрPK») не оказало столь выраженного влияния на активность уреазы в почве, но увеличило активность фермента на 32% по сравнению с контролем.



**Рисунок 23.** Активность уреазы в олиготрофной торфяной почве, мг N-NH<sub>4</sub>/10 г почвы (среднее ± 95% доверительный интервал)

**Таблица 38.** Активность уреазы в олиготрофной торфяной почве, мг N-NH<sub>4</sub>/10 г почвы (среднее)

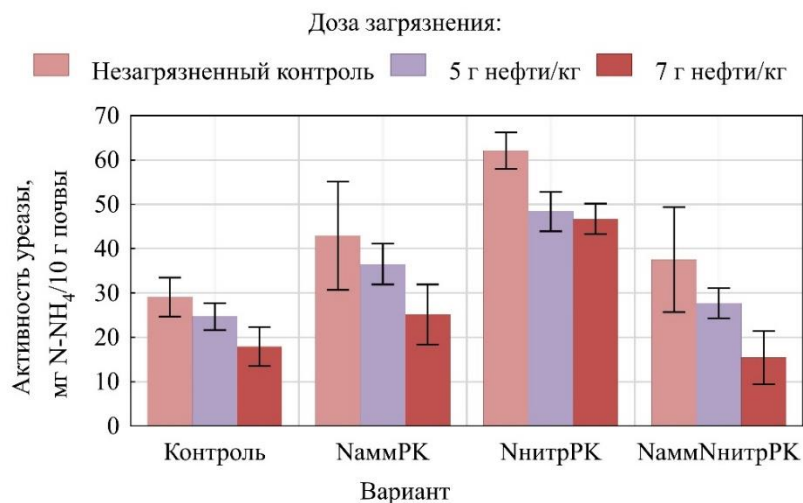
Форма удобрения - фактор В	Доза загрязнения - фактор А			НСР <sub>05</sub> В
	Контроль незагрязненный	100 г нефти/кг	150 г нефти/кг	
Контроль без удобрений	27,60	24,10	20,60	3,32
НаммПК	52,00	26,00	18,25	2,93
НнитрПК	36,33	18,70	14,40	1,61
НаммНнитрПК	56,40	21,51	19,10	2,40
НСР <sub>05</sub> А	2,48	1,90	2,53	

На фоне нефтезагрязнения удобрения не привели к повышению активности уреазы. В вариантах с меньшей дозой загрязнения (100 г/кг) действие аммонийной формы азотных удобрений значимо не отличалось от контроля (табл. 38). В вариантах «НнитрПК» и «НаммНнитрПК» произошло снижение активности фермента на 11-22% по сравнению с контролем.

При увеличении дозы загрязнения в 1,5 раза на всех удобренных вариантах также наблюдалось снижение активности уреазы на 7-30% (рис. 23). Основываясь на полученных данных, можно сказать, что удобрения не смогли компенсировать негативное действие поллютанта. Другими словами, негативное воздействие нефти ( $F = 1050,7$ ;  $F_t = 2,53$ ) оказалось значительно сильнее, чем положительное действие удобрений ( $F = 109,8$ ;  $F_t = 2,53$ ), которое наблюдалось на незагрязненном контроле (табл. 34).

## Чернозем типичный

*Влияние нефтезагрязнения.* Нефть оказала значительный негативный эффект на активность уреазы в почве (рис. 24, табл. 36).



**Рисунок 24.** Активность уреазы в черноземе типичном, мг N-NH<sub>4</sub>/10 г почвы (среднее ± 95% доверительный интервал)

Под влиянием нефтезагрязнения активность фермента снизилась на 15% и 38% в неудобренных почвах с дозами загрязнения 5 г/нефти и 7 г/нефти, соответственно. При этом эффект большей дозы загрязнения был в 1,4 раза выше меньшей дозы на неудобренном варианте.

*Влияние удобрений.* Внесение удобрений привело к повышению активности уреазы в черноземе типичном (рис. 24, табл. 36). В контрольных вариантах без загрязнения активность фермента под действием удобрений повысилась на 29-113%. Максимальная активация работы уреазы получена на варианте «К + НнитрPK».

Механизм повышения уреазной активности может быть связан с косвенным влиянием удобрения на численность и активность почвенной микробиоты. Это подтверждается достаточно высокими коэффициентами корреляции активности уреазы и количеством ДНК бактерий и архей:  $r = 0,79$  и  $r = 0,78$  ( $p < 0,01$ ) соответственно. Количество ДНК исследуемых групп микроорганизмов было тесно связано с содержанием нитратного азота в почве ( $r = 0,9$  и  $r = 0,74$ ,  $p < 0,01$ ).

На фоне внесения удобрений негативное действие нефти на активность уреазы сохранялось, а в некоторых случаях (варианты «7 г нефти + НаммPK» и «7 г нефти + НаммНнитрPK») даже усиливалось. Различия между исследуемыми дозами загрязнения становятся более выраженными. Исключение составляют почвы варианта «НнитрPK» - активность уреазы в почвах, содержащих разные дозы загрязнения, различается всего на 4%, что статистически незначимо (табл. 39).

**Таблица 39.** Активность уреазы в черноземе типичном, мг N-NH<sub>4</sub>/10 г почвы (среднее)

Форма удобрения - фактор В	Доза загрязнения - фактор А			НСР <sub>05</sub> В
	Контроль незагрязненный	5 г нефти/кг	7 г нефти/кг	
Контроль без удобрений	29,10	24,68	17,91	3,19
НаммРК	42,90	36,50	25,12	6,40
НнитрРК	62,10	48,36	46,71	3,23
НаммНнитрРК	37,50	27,70	15,40	6,37
НСР <sub>05</sub> А	6,32	2,75	3,72	

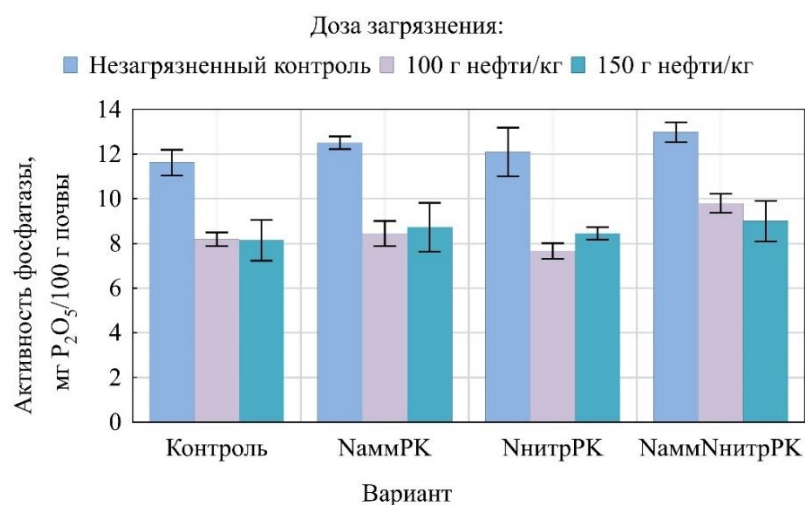
Согласно дисперсионному анализу, сравнительно больший вклад в изменение активности каталазы на черноземе типичном вносит фактор «форма удобрений» ( $F = 218,2$ ;  $F_t = 2,53$ ) по сравнению с фактором «доза загрязнения» ( $F = 122,7$ ;  $F_t = 2,53$ ). Несмотря на то, что отмечается наличие совместного влияния исследуемых факторов (табл. 36), его влияние гораздо менее выражено ( $F = 4,5$ ;  $F_t = 2,53$ ) и проявляется в усилении различий между дозами загрязнения на фоне применения минеральных удобрений.

### 3.3.3 Влияние минеральных удобрений на активность фосфатазы в почве

Фосфатаза участвует в процессе трансформации соединений фосфора в почве, отщепляя его от органических соединений и тем самым увеличивая содержание подвижных фосфатов. Фосфатаза - фермент, чувствительный к изменениям окружающей среды, поэтому может быть эффективно использован для диагностики наличия деградиционных нарушений в экосистеме (Turgay et al., 2010).

#### Олиготрофная торфяная почва

*Влияние нефтезагрязнения.* Фосфатазная активность олиготрофной торфяной почвы претерпела значительные изменения под воздействием нефти (рис. 25, табл. 34).



**Рисунок 25.** Активность фосфатазы в олиготрофной торфяной почве, мг P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/100 г почвы (среднее ± 95% доверительный интервал)

Активность фермента оказалась на 30% ниже на фоне загрязнения в тех вариантах, где не вносились удобрения. При этом, действие исследуемых доз загрязнения значимо не отличалось (табл. 40).

**Таблица 40.** Активность фосфатазы в олиготрофной торфяной почве, мг P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/100 г почвы (среднее)

Форма удобрения - фактор В	Доза загрязнения - фактор А			НСР <sub>05</sub> В
	Контроль незагрязненный	100 г нефти/кг	150 г нефти/кг	
Контроль без удобрений	11,62	8,19	8,14	0,52
НаммРК	12,51	8,44	8,73	0,58
НнитрРК	12,10	7,65	8,44	0,55
НаммНнитрРК	12,97	9,80	9,00	0,80
НСР <sub>05</sub> А	0,47	0,25	0,60	

*Влияние удобрений.* Внесение удобрений, в целом повысило активность фосфатазы на почвах незагрязненных нефтью на 4-12%. Максимальные значения фосфатазной активности были получены с совместным внесением аммиачной и нитратной формы азота. Остальные формы азотных удобрений показали меньшую эффективность, а их действие значимо не различалось.

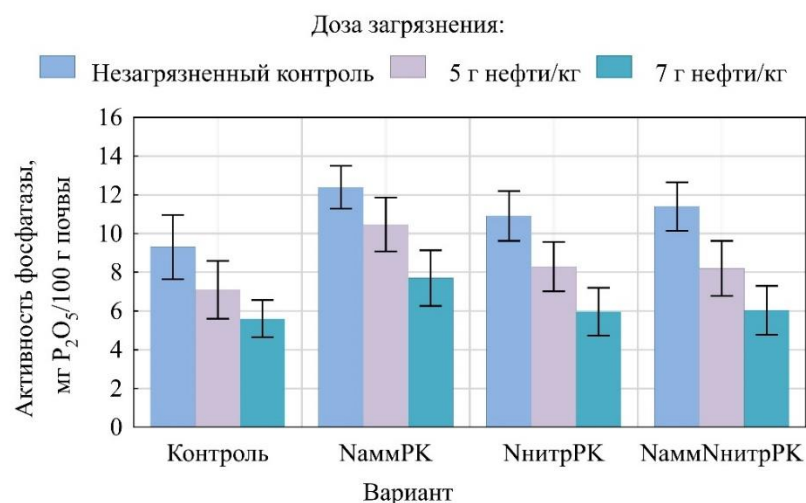
На нефтезагрязненной почве удобрения также увеличили активность фосфатазы в почве на 3-20%. Между исследуемыми факторами - доза загрязнения и форма удобрения - наблюдался эффект взаимодействия. Однако, действие фактора «доза загрязнения» ( $F = 770,3$ ;  $F_t = 2,53$ ) было намного выше влияния фактора «форма удобрения» ( $F = 42,2$ ;  $F_t = 2,53$ ) и их взаимодействия ( $F = 5,7$ ;  $F_t = 2,53$ ).

На вариантах «150 г нефти» достоверно значимое влияние удобрений на активность фосфатазы отмечено только на варианте «НаммНнитрРК» (табл. 40). При меньшей дозе загрязнения (100 г/кг) влияние всех исследуемых удобрений значимо отличалось от контроля.

#### **Чернозем типичный**

*Влияние нефтезагрязнения.* Активность фосфатазы в черноземе типичном значимо снизилась под воздействием всех исследуемых доз загрязнения (рис. 26, табл. 36). Уменьшение активности фермента на 24-40% произошло в вариантах, на которых не применялись агрохимические средства, снизившись на 21% при росте загрязнения по сравнению с меньшей дозой.





**Рисунок 26.** Активность фосфатазы в черноземе типичном, мг  $P_2O_5/100$  г почвы (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

*Влияние удобрений.* На фоне применения удобрений фосфатазная активность увеличилась, в том числе в загрязненных нефтью почвах. В незагрязненной почве удобрения повысили активность фермента в 1,2-1,3 раза, а в загрязненной - в 1,1-1,5 раза.

Максимальная активность фосфатазы наблюдается в варианте «НаммРК» при обеих дозах загрязнения. Только на этом варианте отмечается значимое повышение активности фосфатазы по сравнению с контролем при загрязнении почвы нефтью в дозе 7 г/кг (табл. 41).

**Таблица 41.** Активность фосфатазы в черноземе типичном, мг  $P_2O_5/100$  г почвы (среднее)

Форма удобрения - фактор В	Доза загрязнения - фактор А			НСР <sub>05</sub> В
	Контроль незагрязненный	100 г нефти/кг	150 г нефти/кг	
Контроль без удобрений	9,30	7,10	5,60	1,13
НаммРК	12,40	10,47	7,70	1,06
НнитрРК	10,91	8,29	5,97	1,02
НаммНнитрРК	11,40	8,20	6,04	1,06
НСР <sub>05</sub> А	0,94	0,98	0,87	

Влияние нефтезагрязнения проявлялось сильнее, чем действие удобрений, что подтверждается величинами F критерия для каждого фактора (табл. 36). Совместное действие факторов было незначимым.

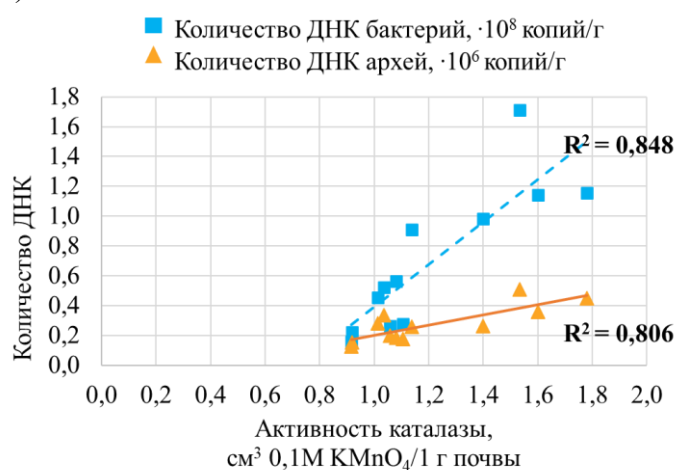
### 3.3.4 Основные результаты

Нефтезагрязнение оказывает значительное влияние на работу ферментов в почве. Нефть и продукты ее трансформации способны снижать активность изученных нами ферментов. Механизм изменений их активности может быть связан как непосредственно с их

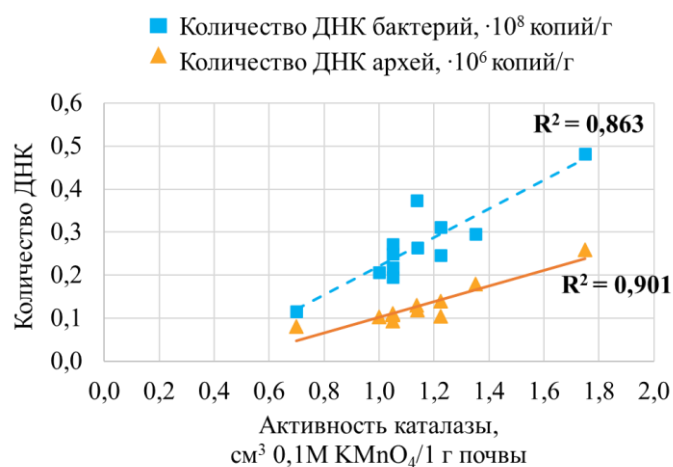
ингибированием, так и с изменением почвенных условий, трансформацией метаболических процессов в почве.

В данном исследовании установлено сильное негативное воздействие нефтезагрязнения на активность каталазы на обоих изучаемых типах почв. Каталазная активность на фоне нефтезагрязнения была ниже в 1-1,5 раза в торфяной олиготрофной почве и в 1,1-1,4 раза в черноземе типичном. Активность каталазы, как правило, находится в обратной линейной зависимости от содержания нефти и нефтепродуктов в почве (Сулейманов, Назырова 2007; Shen et al, 2016). Аналогичные результаты были получены в нашем исследовании на обоих типах почв. На торфяной олиготрофной почве коэффициент корреляции между остаточным содержанием нефти и активностью каталазы в почве составил -0,90, а на черноземе типичном -0,67 ( $p < 0,01$ ).

Каталазная активность может быть связана с общей численностью микроорганизмов в почве (Новоселова, 2008; Shen et al, 2016). В данном исследовании отмечено наличие высокой положительной корреляции между активностью фермента и количеством ДНК бактерий и архей в почве (рис. 27, рис. 28).



**Рисунок 27.** Корреляция между активностью каталазы и количеством ДНК бактерий и архей в олиготрофной торфяной почве ( $n = 6$ )



**Рисунок 28.** Корреляция между активностью каталазы и количеством ДНК бактерий и архей в черноземе типичном ( $n = 6$ )

Действие удобрений оказало положительное действие на активность каталазы в почвах. На нефтезагрязненных почвах действие исследуемых удобрений практически не различалось между собой, в связи с чем сложно выделить среди них наиболее эффективное. При этом на незагрязненных контрольных почвах можно наблюдать положительную динамику активности каталазы на фоне оптимизации агрохимических свойств почв с помощью минеральных удобрений.

Максимальная активность каталазы в торфяной олиготрофной почве отмечена при внесении удобрений, содержащих азот в аммонийной форме. В черноземе типичном активность каталазы достигала максимума на варианте с внесением нитратной формы азота.

Уреазная активность в нефтезагрязненных почвах, как правило, имеет тенденцию повышаться вследствие увеличения содержания доступного для организмов углерода или изменения окислительно-восстановительной обстановки в сторону преобладания восстановительных условий (Исмаилов, 1988; Киреева и др., 2001; Новоселова и др., 2014). Однако, в ряде исследований также отмечается снижение активности этого фермента под влиянием нефтезагрязнения, особенно длительного (Сулейманов, Назырова, 2007; Новоселова, 2008). Аналогичное действие нефти выявлено и в данном исследовании.

В черноземе типичном снижение активности уреазы на фоне загрязнения (в 1,2-2,4 раза по сравнению с контролем) было менее интенсивным, чем на олиготрофной почве (в 1,3-3 раза). Это подтверждает более выраженную способность черноземных почв к восстановлению и самоочищению от нефтезагрязнения, что часто отмечается в научных исследованиях (Колесников и др., 2006; Щемелина, 2008; Коротченко, Кириенко, 2014). Активность уреазы часто ингибируется ароматическими и парафиновыми углеводородами, которые в большом количестве могут содержаться в почвах с давностью загрязнения больше года (Новоселова, 2008; Новоселова и др., 2014).

Активность фосфатазы снижается в нефтезагрязненных почвах с увеличением дозы загрязнения (Новоселова, 2008; Новоселова, Тухватуллина, 2009; Новоселова и др., 2014; Alrumman et al., 2015). Данные, полученные в нашем исследовании, согласуются с выводами, сделанными авторами аналогичных исследований. Фосфатазная активность нефтезагрязненных почв оказалась, как правило, значительно ниже, чем в контрольных почвах, не содержащих поллютант. При этом на торфяной олиготрофной почве негативное воздействие нефти на активность фосфатазы проявилась более интенсивно, чем на черноземе типичном.

Количество подвижного фосфора в почве связано с активностью фосфатазы в почве (Новоселова, Тухватуллина, 2009; Новоселова и др., 2014). Однако, в нашем исследовании не было обнаружено тесной корреляционной зависимости между данными переменными на

торфяной олиготрофной почве ( $r = 0,51$ ,  $p < 0,01$ ). Вероятнее всего, динамика содержания подвижных фосфатов в олиготрофной торфяной почве в большей степени была связана с влиянием удобрений. Для чернозема типичного отмечается более тесная взаимосвязь ( $r = 0,74$ ,  $p < 0,01$ ), что может свидетельствовать о вкладе в содержание подвижного фосфора как удобрений, так и активности почвенных ферментов.

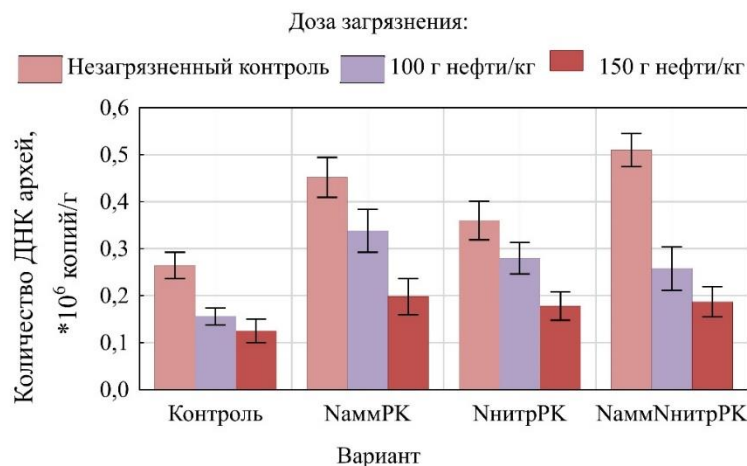
На фоне внесения удобрений активность ферментов в нефтезагрязненных почвах увеличивается, что может свидетельствовать о стимуляции процессов восстановления нарушенных биохимических процессов в почве и активизации процессов редукции углеводов (Сулейманов и др., 2007). Однако, применение удобрений в исследованных дозах и формах не смогло в полной мере компенсировать действие нефтезагрязнения. Вероятно, их действие сильно подавляется под действием поллютанта. Это выражалось в росте различий между загрязненными и незагрязненными почвами в тех вариантах, где применялись минеральные удобрения.

### **3.4 Влияние минеральных удобрений на биологические свойства при нефтезагрязнении**

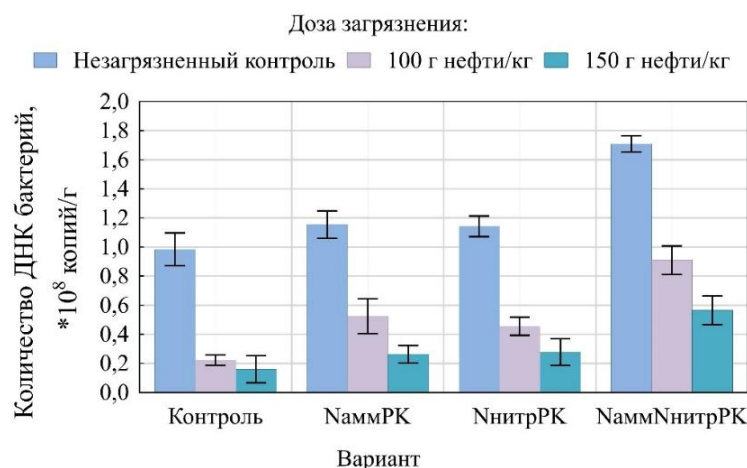
Прокариоты являются основными участниками процесса разложения нефтепродуктов. Измерение численности прокариотных организмов можно использовать для оценки степени загрязнения почвы, а также для диагностики наличия процессов восстановления и самоочищения (Ананьева, 2003; Марченко, 2008; Марченко и др., 2008; Плешакова, 2010; Khan et al., 2018b). Исследование влияния минеральных удобрений на биологические свойства почв производилось с помощью измерения количества ДНК прокариот (бактерии и археи) в почве. Оценка количества копий генов архей и бактерий позволяет судить об общей численности прокариот в почве.

#### **Торфяная олиготрофная почва**

*Влияние нефтезагрязнения.* Анализ численности ДНК прокариот показал, что нефтезагрязнение оказывает значительное влияние на численность как бактерий ( $F = 2377,9$ ;  $F_t = 2,53$ ), так и архей ( $F = 746,3$ ;  $F_t = 2,53$ ) (рис. 29, рис. 30). Численность бактерий снизилась в неудобренной олиготрофной торфяной почве в 4,5-6 раз по сравнению с незагрязненным контролем, а количество архей уменьшилось в среднем в 2 раза.



**Рисунок 29.** Количество ДНК бактерий в олиготрофной торфяной почве,  $\cdot 10^8$  копий/г (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)



**Рисунок 30.** Количество ДНК архей в олиготрофной торфяной почве,  $\cdot 10^6$  копий/г (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

Количество ДНК бактерий и архей снижалось под воздействием всех исследуемых доз загрязнения, при этом, чем выше доза загрязнения, тем сильнее проявлялось негативное воздействие загрязнителя. Применение удобрений увеличивало количество ДНК бактерий ( $F = 495,4$ ;  $F_t = 2,53$ ) и архей ( $F = 196,9$ ;  $F_t = 2,53$ ) в олиготрофной торфяной почве. В незагрязненной почве численность бактерий достоверно возросла на 17-74%, максимум наблюдался в варианте «НаммНнитрПК». Численность архей увеличилась в большей степени - на 36-93% по сравнению с неудобренным контролем, возрастая практически в 2 раза в варианте «НаммНнитрПК».

На нефтезагрязненной почве количество ДНК бактерий в удобренных вариантах увеличивается на 105-310% в вариантах с меньшей дозой загрязнения (100 г нефти/кг) и на 64-253% в вариантах с дозой 150 г нефти/кг почвы. Максимум численности ДНК бактерий наблюдался в вариантах с одновременным внесением аммиачной и нитратной форм азота для обеих исследуемых доз загрязнения. Это подтверждается проведенным статистическим анализом

и рассчитанными коэффициентами корреляции между остаточным содержанием нефти и количеством ДНК бактерий ( $r = 0,88$ ;  $p > 0,01$ ). Согласно F критериям, рассчитанным в дисперсионном анализе, влияние фактора «форма удобрения» на количество ДНК бактерий ( $F = 495,4$ ;  $F_t = 2,53$ ) оказалось менее выраженным, чем влияние фактора «доза загрязнения» ( $F = 2377,9$ ;  $F_t = 2,53$ ). Небольшое совместное влияние ( $F = 17,2$ ;  $F_t = 2,53$ ) может проявляться в некотором усилении негативного эффекта большей дозы загрязнения при применении удобрений на нефтезагрязненной почве (табл. 42).

**Таблица 42.** Различия в количестве ДНК бактерий в олиготрофной торфяной почве при применении минеральных форм удобрений на разных дозах загрязнения

Форма удобрения	Доза загрязнения	Количество ДНК бактерий, $\cdot 10^8$ копий/г (среднее)	Разница между дозами загрязнения, абс. (%)
Контроль без удобрений	100 г нефти	0,222	-0,062 (-27,9%)
	150 г нефти	0,160	
НаммРК	100 г нефти	0,524	-0,262 (-50,0%)
	150 г нефти	0,262	
НнитрРК	100 г нефти	0,456	-0,178 (-39,0%)
	150 г нефти	0,278	
НаммНнитрРК	100 г нефти	0,910	-0,345 (-37,9%)
	150 г нефти	0,565	

Количество ДНК архей на нефтезагрязненной почве также увеличивалось в результате применения удобрений на 65-117% в вариантах с дозой загрязнения 100 г/кг почвы и на 42-58% на вариантах с большей дозой загрязнения (рис. 30). При увеличении дозы загрязнения в 1,5 раза эффективность действия удобрений снижалась на 16-58%, наибольшие различия между исследуемыми дозами загрязнения наблюдались в варианте «НаммРК». На этом варианте наблюдаемый негативный эффект от большей дозы загрязнения усиливался на 5-14% по сравнению с другими формами удобрений (табл. 43).

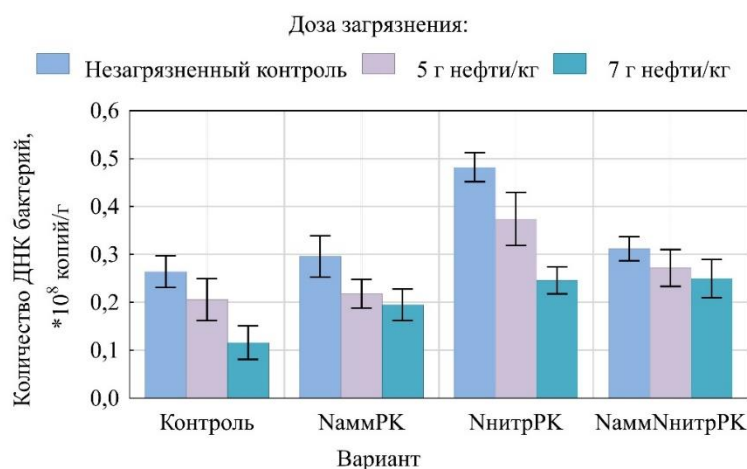
Более сильный эффект нефтезагрязнения по сравнению с действием удобрений подтверждается по результатам дисперсионного анализа: влияние фактора «доза загрязнения» ( $F = 746,3$ ;  $F_t = 2,53$ ) оказалось сильнее фактора «форма удобрения» ( $F = 197,0$ ;  $F_t = 2,53$ ) или их взаимодействия ( $F = 35,5$ ;  $F_t = 2,53$ ).

**Таблица 43.** Различия в количестве ДНК архей в олиготрофной торфяной почве при применении минеральных форм удобрений на разных дозах загрязнения

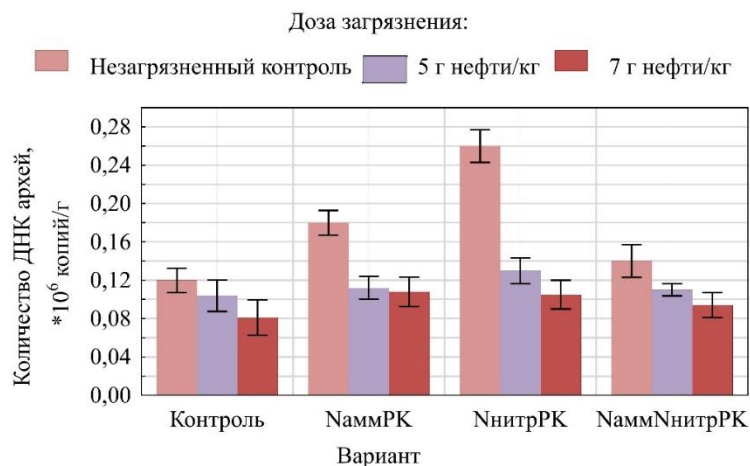
Форма удобрения	Доза загрязнения	Количество ДНК архей, $\cdot 10^6$ копий/г (среднее)	Разница между дозами загрязнения, абс. (%)
Контроль без удобрений	100 г нефти	0,156	-0,031 (-19,9%)
	150 г нефти	0,125	
НаммРК	100 г нефти	0,338	-0,140 (-41,4%)
	150 г нефти	0,198	
НнитрРК	100 г нефти	0,280	-0,102 (-36,4%)
	150 г нефти	0,178	
НаммНнитрРК	100 г нефти	0,258	-0,071 (-27,5%)
	150 г нефти	0,187	

### Чернозем типичный

*Влияние нефтезагрязнения.* Количество ДНК прокариот снизилось под действием нефтезагрязнения: численность бактерий, выраженная в количестве копий генов в почве, значительно на 22-56% ( $F = 250,8$ ;  $F_t = 2,53$ ), а численность архей - на 13-33% ( $F = 594,1$ ;  $F_t = 2,53$ ). (рис. 31, рис. 32).



**Рисунок 31.** Количество ДНК бактерий в черноземе типичном,  $\cdot 10^8$  копий/г (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)



**Рисунок 32.** Количество ДНК архей в черноземе типичном,  $\cdot 10^6$  копий/г (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

*Влияние удобрений.* На фоне применения удобрений повысилось количество ДНК как бактерий, так и архей в почве (рис. 31, 32). Численность бактерий в незагрязненной почве под влиянием удобрений выросла на 12-83% по сравнению с контролем без удобрений. Наибольшую эффективность показывают удобрения на варианте с внесением нитратной формы азота. Удобрения на вариантах «К + НаммРК» и «К + НаммНнитрРК» показали равную эффективность при отсутствии значимых различий в количестве ДНК бактерий на этих вариантах.

Прирост ДНК архей на незагрязненной почве составил 17-117% на фоне применения минеральных удобрений. Максимальное количество копий генов архей приходилось также на вариант с внесением нитратной формы азота, снижаясь в ряду «К + НаммРК» > «К + НаммНнитрРК».

На фоне нефтезагрязнения удобрения оказали значительное влияние на количество ДНК бактерий, увеличив его на 6-82% на вариантах с дозой загрязнения 5 г/кг и на 68-116% на вариантах с дозой поллютанта 7 г/кг. На вариантах с меньшей дозой загрязнения численность ДНК бактерий была максимальна на варианте с применением нитратных удобрений, применение только аммиачной формы при загрязнении 5 г/кг не оказывала значимого влияния по отношению к контролю. В вариантах с дозой загрязнения 7 г/кг применение нитратной и смешанной аммиачно-нитратной формы удобрения показало одинаковое влияние на количество ДНК бактерий в почве. При более высокой дозе загрязнения (7 г/кг) отмечена повышение эффективности применяемых удобрений по сравнению с меньшей дозой загрязнения.

Количество ДНК архей также изменялось под действием удобрений, но эффект наблюдался только на незагрязненных вариантах. На фоне загрязнения удобрений приводило к их 6-33% росту, при этом не обнаруживалось устойчивых различий между различными формами



удобрений. Влияние удобрений ( $F = 200,1$ ;  $F_t = 2,53$ ) довольно сильно подавлялось на фоне загрязнения почв нефтью ( $F = 594,1$ ;  $F_t = 2,53$ ).

### 3.4.1 Основные результаты

Микробная деградация углеводородов представляет собой основной механизм биоремедиации нефтезагрязненных земель (Wiltse et al., 1998; Wang et al., 2011, 2008; Innemanova et al., 2018; Lv et al., 2018; Košnář et al., 2018, 2019). Особое внимание обращают на себя технологии, предполагающие стимуляцию активности автохтонной микробиоты в почве, а также улучшение условий ее обитания, в том числе, при применении различных агрохимических средств (Hesnawi, Adbeib, 2013).

В нашем исследовании применение минеральных удобрений приводило к увеличению количества прокариотной ДНК на всех вариантах опыта. Несмотря на то, что в нефтезагрязненной почве увеличение численности прокариот было не столь значительным, как в незагрязненной почве, общее количество ДНК бактерий и архей достоверно увеличилось по сравнению с неудобренным контролем. Подобные тенденции наблюдались как на торфяной олиготрофной почве, так и на черноземе типичном. Это говорит о благоприятном воздействии применяемых агрохимических средств как на численность, так и, возможно, на активность почвенных прокариот.

Увеличение количества ДНК архей и бактерий связано со снижением количества нефтепродуктов в почве. Об этом свидетельствуют высокие значения коэффициентов корреляции между данными параметрами (табл. 44). Это может свидетельствовать об усилении процессов разложения нефти в почве вслед за увеличением численности прокариот, выступающих в качестве основных деструкторов нефтепродуктов (Varjani, 2017; Varjani, Urasani, 2017).

**Таблица 44.** Коэффициенты корреляции между остаточным содержанием нефти и количеством ДНК прокариот в почве ( $n = 6$ )

Почва	Олиготрофная торфяная		Чернозем типичный	
	Количество ДНК прокариот в почве, $\cdot 10^8$ копий/г		Количество ДНК прокариот в почве, $\cdot 10^8$ копий/г	
	Бактерии	Археи	Бактерии	Археи
Остаточное содержание нефти в почве, г/кг	-0,88*	-0,81*	-0,63*	-0,72*

\* коэффициенты корреляции значимы на уровне  $p > 0,01$

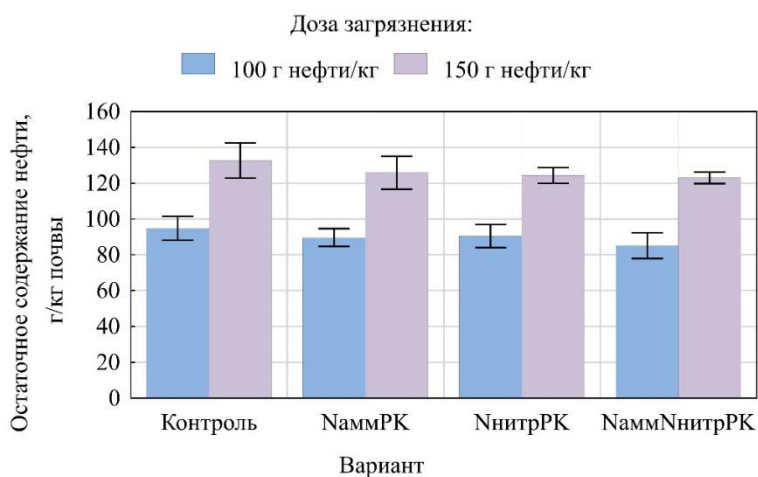
Численность прокариот в почвах связана с продуктивностью растений, что также отмечается рядом авторов (Agnello et al., 2016). Высокие коэффициенты корреляции ( $p < 0,01$ )

количества ДНК бактерий ( $r = 0,89$ ) и архей ( $r = 0,88$ ) с биомассой растений в олиготрофной торфяной почве в нашем исследовании могут свидетельствовать о наличии ризосферного эффекта, играющего большую роль в усилении процессов деградации нефти в почве (Singh, Jain, 2003; Nie et al, 2009; Муратова, 2013). На черноземе обнаружены аналогично высокие коэффициенты корреляции надземной биомассы растений и количеством ДНК прокариот: для бактерий  $r = 0,82$ , для архей  $r = 0,86$  ( $p < 0,01$ ). Полученные результаты также косвенно характеризуют отсутствие конкуренции за питательные вещества в почвах между растениями и микроорганизмами.

### 3.5 Влияние минеральных удобрений на эффективность деструкции нефти в почве

#### Торфяная олиготрофная почва

За время проведения вегетационного опыта содержание нефтепродуктов в почве значительно снизилось на фоне применения удобрений (рис. 33, табл. 45).



**Рисунок 33.** Остаточное содержание нефтепродуктов (НП) в олиготрофной торфяной почве, г/кг (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

В почве, изначально загрязненной в дозе 100 г нефти/кг, после окончания опыта количество поллюганта снизилось на 3-16% (табл. 46). Значимо содержание нефтепродуктов снизилось только на тех вариантах, где вносились удобрения, содержащие аммонийную форму азота (варианты «100 г нефти + НаммРК» и «100 г нефти + НаммНнитрРК»: на 9 и 13% по сравнению с неудобренным контролем, соответственно. Эффект снижения содержания нефтепродуктов на этих вариантах статистически не отличался на уровне значимости 0,05.

**Таблица 45.** Результаты однофакторного дисперсионного анализа остаточного содержания нефтепродуктов (НП) на олиготрофной торфяной почве (среднее  $\pm$  ст. отклонение)

Вариант		Остаточное содержание НП в почве, г/кг
100 г нефти		94,9 $\pm$ 2,7
100 г нефти + НаммРК		89,6 $\pm$ 2,0
100 г нефти + НнитрРК		90,5 $\pm$ 2,6
100 г нефти + НаммНнитрРК		85,1 $\pm$ 2,9
150 г нефти		132,7 $\pm$ 4,0
150 г нефти + НаммРК		125,9 $\pm$ 3,7
150 г нефти + НнитрРК		124,3 $\pm$ 1,7
150 г нефти + НаммНнитрРК		123,0 $\pm$ 1,3
Фактор В «Форма удобрения»	F	173,6
	p	0,00
F <sub>t</sub> = 2,31		

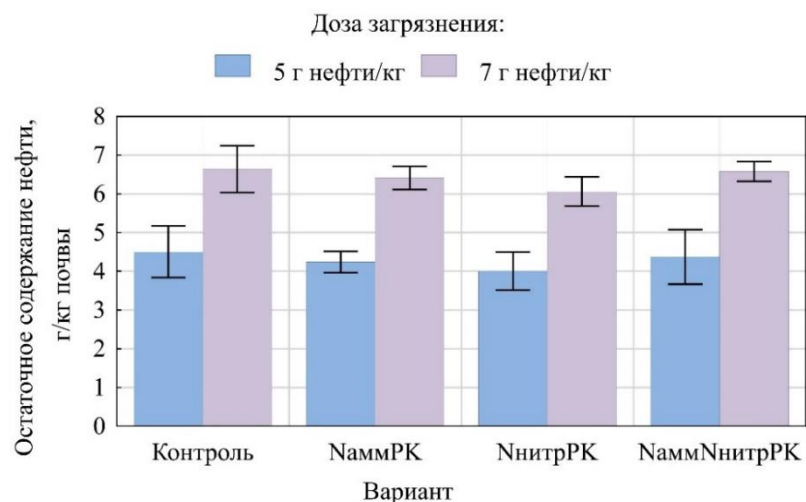
**Таблица 46.** Среднее остаточное содержание нефтепродуктов (НП) в олиготрофной торфяной почве, мг/кг

Форма удобрения - фактор В	Доза загрязнения			
	100 г нефти/кг		150 г нефти/кг	
	Остаточное содержание НП в почве, г/кг	Снижение по сравнению с контролем, %	Остаточное содержание НП в почве, г/кг	Снижение по сравнению с контролем, %
Контроль без удобрений	94,9	3%	132,7	9%
НаммРК	89,6	9%	125,9	14%
НнитрРК	90,5	8%	124,3	15%
НаммНнитрРК	85,1	13%	123,0	16%
НСР <sub>05</sub>	4,5		5,1	

В почвах, загрязненных дозой нефти 150 г/кг, количество нефтепродуктов к окончанию опыта снизилось значительно - на 9-16% (табл. 46). Значимые изменения в содержании нефтепродуктов в почве произошли при внесении всех используемых в опыте форм удобрений. Их действие между собой значимо не отличалось.

#### **Чернозем типичный**

Согласно однофакторному дисперсионному анализу, действие удобрений привело к значительному – до 18% снижению содержания нефти в почве, что оценено по окончании вегетационного опыта (рис. 34, табл. 47).



**Рисунок 34.** Остаточное содержание нефтепродуктов (НП) в черноземе типичном, г/кг (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал)

**Таблица 47.** Результаты однофакторного дисперсионного анализа остаточного содержания нефтепродуктов (НП) на черноземе типичном (среднее  $\pm$  ст. отклонение)

Вариант		Остаточное содержание НП в почве, г/кг
5 г нефти		4,5 $\pm$ 2,0
5 г нефти + НаммРК		4,2 $\pm$ 1,0
5 г нефти + НнитрРК		4,0 $\pm$ 0,6
5 г нефти + НаммНнитрРК		4,4 $\pm$ 0,1
7 г нефти		6,6 $\pm$ 0,2
7 г нефти + НаммРК		6,4 $\pm$ 0,1
7 г нефти + НнитрРК		6,1 $\pm$ 0,2
7 г нефти + НаммНнитрРК		6,5 $\pm$ 0,1
Фактор В «Форма удобрения»	F	121,2
	p	0,00
$F_t = 2,31$		

Более заметное снижение содержания нефтепродуктов к концу вегетационного периода наблюдалось на почве с изначально меньшей дозой загрязнения (5 г нефти/кг). Содержание нефтепродуктов в почве по сравнению с контролем достоверно снизилось только на вариантах с внесением отдельно аммиачной либо нитратной формы удобрений (табл. 48). Остаточное содержание поллютанта на варианте с внесением аммонийно-нитратной формы азотных удобрений значимо не отличалось от контрольного удобренного варианта. На этом варианте также отмечено более низкое количество ДНК прокариот по сравнению с остальными удобренными вариантами.

**Таблица 48.** Среднее остаточное содержание нефтепродуктов (НП) в черноземе типичном, г/кг

Форма удобрения - фактор В	Доза загрязнения			
	5 г нефти/кг		7 г нефти/кг	
	Остаточное содержание НП в почве, мг/кг	Снижение по сравнению с контролем, %	Остаточное содержание НП в почве, мг/кг	Снижение по сравнению с контролем, %
Контроль без удобрений	4,50	8%	6,64	8%
НаммРК	4,24	13%	6,41	11%
НнитрРК	4,00	18%	6,06	16%
НаммНнитрРК	4,37	11%	6,58	9%
НСР <sub>05</sub>	0,2		0,3	

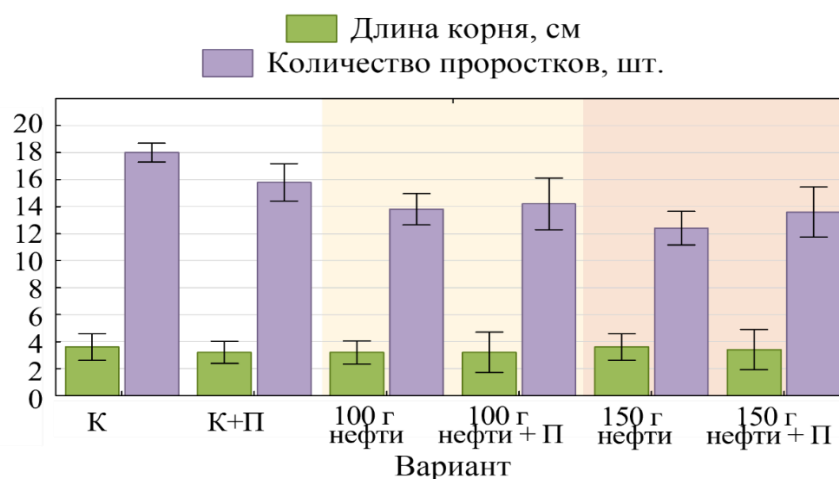
Содержание нефтепродуктов в почве вариантов с большей дозой загрязнения снизилось к концу вегетации на 9-16%. При этом значимым оказалось лишь действие удобрения, содержащего нитратную форму азота. Остальные удобрения обнаружили статистически незначимую по сравнению с контролем тенденцию к снижению, при уменьшении содержания нефтепродуктов по сравнению с ним на конец вегетационного периода на 8-11%. Как уже отмечалось ранее (табл. 44), содержание нефтепродуктов тесно коррелировало с количеством ДНК бактерий и архей в почве. На торфяной олиготрофной почве отмечен максимум содержания ДНК прокариот на вариантах с внесением аммиачной и смешанной аммиачно-нитратной форм, в то же время на этих вариантах наблюдалось наименьшее остаточное содержание нефтепродуктов в почве. Для чернозема типичного сохраняется такая же динамика, для варианта с нитратными азотными удобрениями.

### 3.6 Оценка супрессивности нефтезагрязненной почвы

#### Торфяная олиготрофная почва

Результаты фитотестирования при оценке супрессивности олиготрофной торфяной почвы представлены на рисунке 35.

*Токсическое воздействие нефти* проявилось только на показатель всхожести семян. Под воздействием нефти количество проростков сокращалось на 23,3% в варианте с меньшей дозой загрязнения (100 г нефти/кг почвы) и на 31,1% на варианте с большей дозой. Наблюдается положительная динамика в статистически значимом увеличении количества проросших семян при снижении дозы загрязнения со 150 г/кг до фонового уровня загрязнения (табл. 49). Длина корня изменяется на 1-11% под воздействием нефтезагрязнения, однако подобная динамика не обнаруживает статистической значимости на уровне 95%.



**Рисунок 35.** Количество проростков и длина главного корня семян тест-культуры на олиготрофной торфяной почве (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал); цветными зонами на графике обозначены варианты, загрязненные нефтью: желтая зона – 100 г нефти/кг почвы; оранжевая зона – 150 г нефти/кг почвы

**Таблица 49.** Результаты дисперсионного анализа для параметра «Количество проростков» для олиготрофной торфяной почвы

Вариант	Значения	Разница
<b>Воздействие фактора А - доза загрязнения</b>		
К	18,0 $\pm$ 0,30	4,20
100 г нефти	13,8 $\pm$ 0,49	
150 г нефти	12,4 $\pm$ 0,57	5,60
F = 73,5; p = 0,00; НСР <sub>0,05</sub> А = 0,83		
<b>Воздействие фактора В – патоген</b>		
К	18,0 $\pm$ 0,30	2,20
К + П	15,8 $\pm$ 0,59	
100 г нефти	13,8 $\pm$ 0,49	-0,40
100 г нефти + П	14,2 $\pm$ 0,85	
150 г нефти	12,4 $\pm$ 0,57	-1,17
150 г нефти + П	13,6 $\pm$ 0,85	
F = 14,2; p = 0,00; НСР <sub>0,05</sub> В = 1,23		

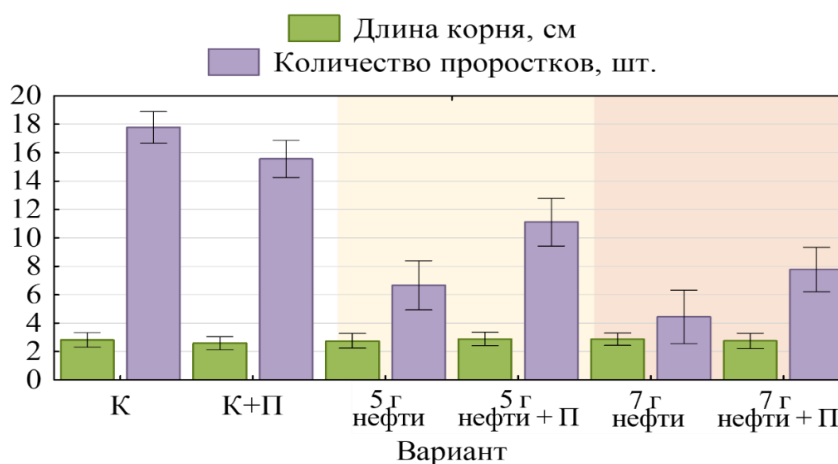
Фитотоксичность патогена *Fusarium solani* также проявляется только по отношению к количеству проростков. Снижение всхожести семян при наличии патогена наблюдается только на незагрязненной почве и составляет 12,2% от контроля.

Длина главного корня под воздействием фитопатогена снижается на 5-12%, однако, данные изменения носят характер тенденции, а их значимость не подтверждается статистически.

В отсутствие поллютанта патоген приводит к снижению числа всходов на 12,2%. На фоне нефтезагрязнения проявляется обратный эффект. В варианте с дозой загрязнения 150 г/кг количество проростков в присутствии *Fusarium solani* увеличивается на 9,7% по отношению к варианту, не содержащему патоген. В почве, содержащей поллютант в дозе 100 г/кг, также отмечено повышение количества проросших семян на 2,9% в присутствии патогена. Эти изменения статистически не значимы, однако подчеркивают имеющуюся тенденцию к увеличению всхожести семян на фоне совместного влияния фитопатогена и нефтезагрязнения.

### Чернозем типичный

Оценка супрессивности чернозема типичного проводилась аналогично оценке для торфяной олиготрофной почвы. Для каждого опытного варианта было измерено количество проростков семян, а также длина главного корня (рис. 36).



**Рисунок 36.** Количество проростков и длина главного корня семян тест-культуры на черноземе типичном (среднее  $\pm$  95% доверительный интервал); цветными зонами на графике обозначены варианты, загрязненные нефтью: желтая зона – 5 г нефти/кг почвы; оранжевая зона – 7 г нефти/кг почвы

*Влияние нефтезагрязнения* отмечается на всех вариантах опыта в снижении всхожести семян тест-культуры (табл. 50). Количество проросших семян уменьшается по мере увеличения дозы загрязнения - на 18,9% в варианте с дозой нефти 5 г/кг и на 28,9% в варианте с дозой загрязнения 7 г/кг. Длина главного корня под влиянием нефтезагрязнения изменяется незначительно, на 2,3% по сравнению с незагрязненным контролем.

**Таблица 50.** Результаты дисперсионного анализа для параметра «Количество проростков» для чернозема типичного

Вариант	Значения	Разница
<b>Воздействие фактора А - доза загрязнения</b>		
К	19,0 ± 0,35	3,57
5 г нефти	15,4 ± 0,49	
7 г нефти	13,5 ± 0,60	5,47
F = 119,4; p = 0,00; НСР <sub>0,05</sub> А = 0,87		
<b>Воздействие фактора В – патоген</b>		
К	19,0 ± 0,35	2,10
К + П	16,9 ± 0,24	
100 г нефти	15,4 ± 0,49	-1,67
100 г нефти + П	17,1 ± 0,57	
150 г нефти	13,5 ± 0,60	-1,40
150 г нефти + П	14,9 ± 0,57	
F = 9,4; p = 0,00; НСР <sub>0,05</sub> В = 1,67		

**Воздействие фитопатогена** также обнаруживается только на количестве проростков тест-культуры и только на незагрязненном варианте. В почве с фоновым уровнем загрязнения нефтью, количество проросших семян снижалось на 11,1% в присутствии микромицета.

На загрязненной почве проявляется стимулирующее воздействие патогена, характеризующееся увеличением количества проростков на 110-111%. Максимальный стимулирующий эффект достигается на фоне загрязнения в дозе 7 г/кг, однако существенные различия отмечены только для меньшей дозы загрязнения. В варианте «5 г нефти + П» количество проростков выше на 11% по сравнению с вариантом «5 г нефти». Таким образом, можно говорить о наличии сильного эффекта взаимодействия изучаемых факторов, что подтверждается двухфакторным статистическим анализом.

### 3.6.1 Основные результаты

Из двух используемых оценочных показателей наиболее чувствительным оказался показатель всхожести семян. Измерение длины главного корня не дало возможности выявить наличие или отсутствие изменений в модельной тест-системе *Fusarium solani* - *Triticum aestivum* L. как для олиготрофной торфяной почвы, так и для чернозема типичного.



Всхожесть семян значительно снижалась при присутствии поллютанта в почве, что согласуется с аналогичными исследованиями (Трофимов и др., 2008; Арзамазова и др., 2016). Снижение дозы нефтезагрязнения приводило к увеличению количества проросших семян на 8-10%, что может свидетельствовать о восстановлении системы по мере уменьшения количества поллютанта. Тест-культура на торфяной олиготрофной почве показала более высокую чувствительность по сравнению с черноземом типичным. При максимальных дозах загрязнения отклик показателя, характеризующего всхожесть семян, на исследуемых почвах практически не различался.

Отдельно следует отметить, что при увеличении загрязнения также увеличивается стандартное отклонение. Рост варибельности может свидетельствовать о возрастании чувствительности показателей по мере увеличения техногенной нагрузки на исследуемую систему.

В используемой тест-системе также оценивалось воздействие фитопатогена на яровую пшеницу. Изменение всхожести семян тест-культуры в присутствии патогена показано на обеих исследуемых незагрязненных почвах. При этом динамика наблюдаемых изменений для этих почв аналогична.

Обнаружено наличие разнонаправленного действия патогена на семена растений, в зависимости от наличия нефтезагрязнения. Так, на незагрязненной почве, *Fusarium solani* проявляет негативный ингибирующий эффект, выражающийся в снижении количества проросших семян на 11-12%. На фоне нефтезагрязнения проявляется тенденция к увеличению всхожести семян в присутствии патогена. В литературных источниках не отмечается эффекта подавления развития фитопатогенных микромицетов, в число которых относится *Fusarium solani*, в присутствии нефтезагрязнения (Бакаева, 2004; Мифтахова, 2006). В связи с чем, негативное воздействие фитопатогена должно было проявиться на всех вариантах опыта. Вероятнее всего, токсическое действие исследуемых доз загрязнения на нефтезагрязненных почвах перекрывает эффект супрессивности. Поэтому в данном исследовании не подтверждается эффект явного влияния патогена на фоне воздействия поллютанта.

В обеих почвах нефтезагрязнение оказывало в 2-3 раза более значительный эффект на показатель прорастания семян, чем влияние патогена. Отдельный эффект патогена на фоне действия двух факторов в 3 из 4 сравниваемых попарно вариантах нефтезагрязненных почв оказался незначимым. Это показывает, что воздействие нефти в системе почва-растения-патоген не ограничивается воздействием на почвенную биоту и взаимоотношение патоген-растение, а оказывается более комплексным. При высокой чувствительности данной методики, по-видимому, невозможно оценить изменение супрессивности почвы на фоне значительного

ингибирующего эффекта поллютанта. Результаты исследования также показывают, что успешное использование супрессивности в качестве интегрального показателя, косвенно характеризующего биологическое состояние почвы при воздействии неблагоприятного фактора, возможно в том случае, если воздействие поллютанта и патогена имеет сходный эффект на изучаемую систему.

### 3.7 Анализ главных компонент

Весь полученный набор показателей, полученных при характеристике объектов исследования, был проанализирован с использованием метода главных компонент (*principal components analysis, PCA*).

#### Торфяная олиготрофная почва

По результатам анализа было выделено три основных вектора - три главные компоненты ГК (рис. 37, табл. 51). Согласно анализу, все измеряемые показатели можно разделить на 3 группы, которые совместно будут описывать 85% общей вариации данных.

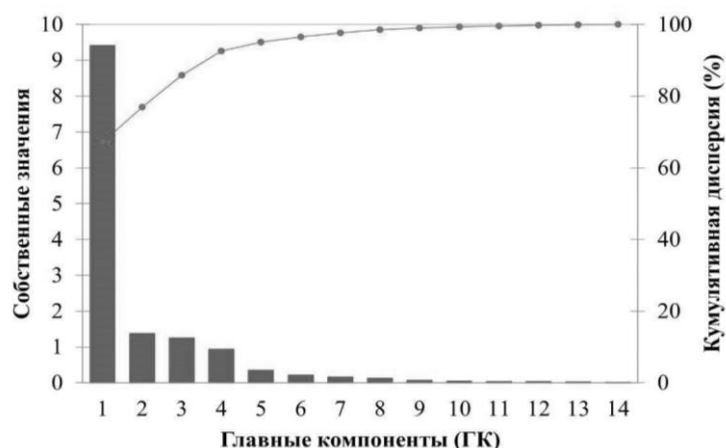


Рисунок 37. График «каменистой осыпи» для олиготрофной торфяной почвы

Таблица 51. Собственные значения (eigenvalues) для факторов (главных компонент) для олиготрофной торфяной почвы

ГК	Собственные значения	% общей дисперсии	Кумулятивные собств. значения	Кумулятивный % общей дисперсии
1	9,410	67,216	9,410	67,216
2	1,370	9,788	10,781	77,004
3	1,244	8,888	12,025	85,892

В главную компоненту 1 (ГК 1) можно выделить группу показателей, характеризующих биологические свойства почв (активность ферментов и количество ДНК бактерий) и продуктивность растений (табл. 52), а также остаточное содержание нефтепродуктов.

ГК 2 отражает тесную взаимосвязь между содержанием нитратов, обменного калия в почве и показателями, характеризующими качественный состав биомассы растений (NPK). Отдельную группу образуют содержание аммонийного азота и подвижного фосфора в почве – ГК 3. Следует также отметить, что такой показатель как pH и количество ДНК архей следует выделить отдельно и они не входят ни в одну из выделенных ранее главных компонент.

**Таблица 52.** Нагрузки факторов (factor loadings) для олиготрофной торфяной почвы

Исследуемый показатель	ГК 1	ГК 2	ГК 3
Биомасса растений	0,771	0,576	0,115
Содержание N в биомассе растений (N)	0,432	0,814	0,156
Содержание P в биомассе растений (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	0,426	0,838	0,081
Содержание K в биомассе растений (K <sub>2</sub> O)	0,420	0,842	0,177
Содержание нефтепродуктов (НП)	-0,920	-0,322	-0,054
pH <sub>KCl</sub>	0,440	0,125	-0,448
Содержание N-NH <sub>4</sub> в почве	0,253	0,308	0,862
Содержание N-NO <sub>3</sub> в почве	0,207	0,871	0,250
Содержание P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> в почве	0,375	0,316	0,790
Содержание K <sub>2</sub> O в почве	0,202	0,883	0,360
Активность каталазы	0,821	0,421	0,301
Активность уреазы	0,883	0,167	0,241
Активность фосфатазы	0,843	0,310	0,243
Количество ДНК бактерий	0,734	0,397	0,368
Количество ДНК архей	0,695	0,622	0,156

Был оценен вклад каждой исследуемой переменной в выделенные главные компоненты (табл. 53). Так, в ГК 1 наибольший вклад среди отдельных показателей вносит остаточное содержание нефтепродуктов в почве, этот показатель объясняет около 15% изменчивости набора данных. Вклад активности отдельных ферментов составляет 12-14%, их суммарный вклад в ГК - 38%.

**Таблица 53.** Вклад каждой переменной в ГК для олиготрофной торфяной почвы

Исследуемый показатель	ГК 1	ГК 2	ГК 3
Биомасса растений	10,436	6,435	0,487
Содержание N в биомассе растений (N)	3,265	12,918	1,056
Содержание P в биомассе растений (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	3,238	13,737	0,139
Содержание K в биомассе растений (K <sub>2</sub> O)	3,151	13,966	1,141

Исследуемый показатель	ГК 1	ГК 2	ГК 3
Содержание нефтепродуктов (НП)	14,892	2,048	0,051
pH <sub>KCl</sub>	2,933	0,497	11,550
Содержание N-NH <sub>4</sub> в почве	1,300	2,008	33,559
Содержание N-NO <sub>3</sub> в почве	0,767	14,584	3,086
Содержание P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> в почве	2,627	2,123	27,626
Содержание K <sub>2</sub> O в почве	0,728	15,212	6,027
Активность каталазы	12,000	3,484	3,702
Активность уреазы	13,860	0,515	2,247
Активность фосфатазы	12,685	1,767	2,668
Количество ДНК бактерий	9,652	3,150	5,677
Количество ДНК архей	8,466	7,555	0,985

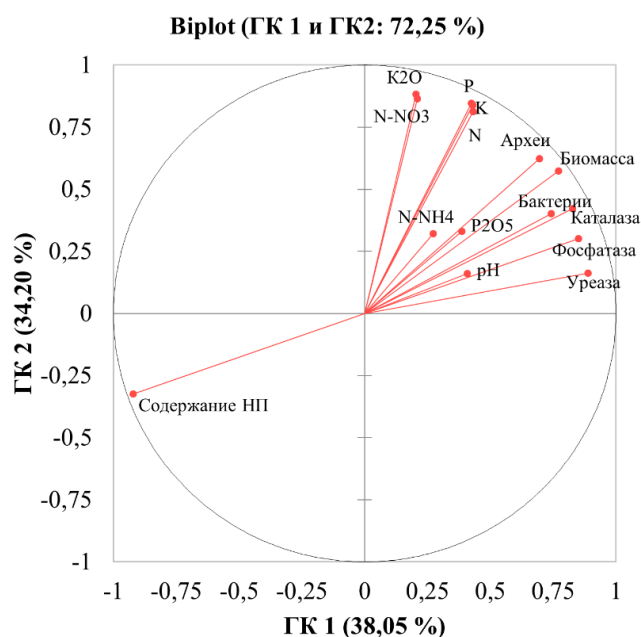
Во второй главной компоненте все показатели вносят практически одинаковый вклад на уровне 12-14%. Наибольший вес имеет содержание калия в почве. На совокупность показателей, характеризующей качественный состав растений, приходится 40% изменчивости, объясненной ГК 2.

Третья компонента состоит из 2 показателей, вносящих наибольших вклад, суммарно составляющий 61,2%.

Разделение показателей, характеризующих агрохимические свойства почв, на две разные компоненты (ГК 2 и ГК 3) может демонстрировать различия в механизмах трансформации NPK удобрений в почве. Так, можно говорить о некотором избытке калия в почве, который вносился в почву с удобрениями в большем количестве, по сравнению с фосфором. Аналогичная динамика наблюдается и по содержанию нитратного азота, который также находится в избытке в почве, по сравнению с содержанием аммонийного азота: соотношение  $N_{NH_4}:N_{NO_3}$  в почвах опыта составляет 1:1,2-1,5. Избыток данных элементов отражается в повышенных значениях содержания обменного калия и нитратного азота по оси ГК 2 по сравнению с содержанием подвижного фосфора и аммонийного азота (рис. 38).

Анализ главных компонент также подтверждает сильную взаимосвязь микробиологических показателей с дозой загрязнения почв нефтью (рис. 38). Особенно эта связь выражена для показателей ферментативной активности почвы, которая является практически одинаковой для всех исследуемых ферментов (табл. 52). Взаимосвязь содержания нефтепродуктов и активности ферментов выражена сильнее, чем для количества ДНК прокариот и для содержания биомассы.

Это косвенно свидетельствует о том, что ферментативная активность – более чувствительный показатель к нефтезагрязнению, чем микробиологические показатели.

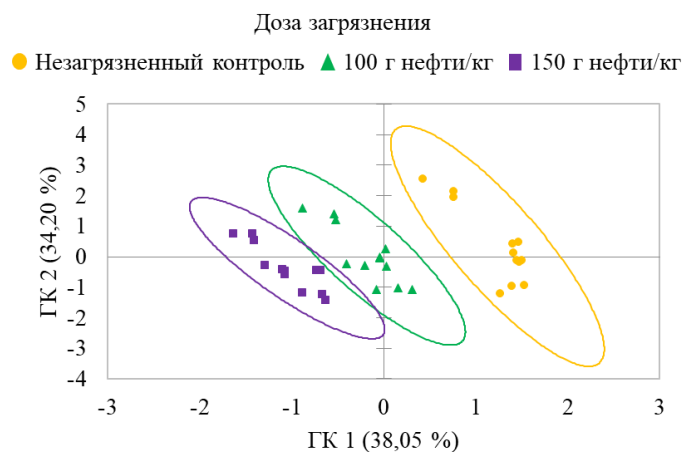


**Рисунок 38.** Биplot по ГК 1 и ГК 2 с векторами изучаемых показателей для олиготрофной торфяной почвы

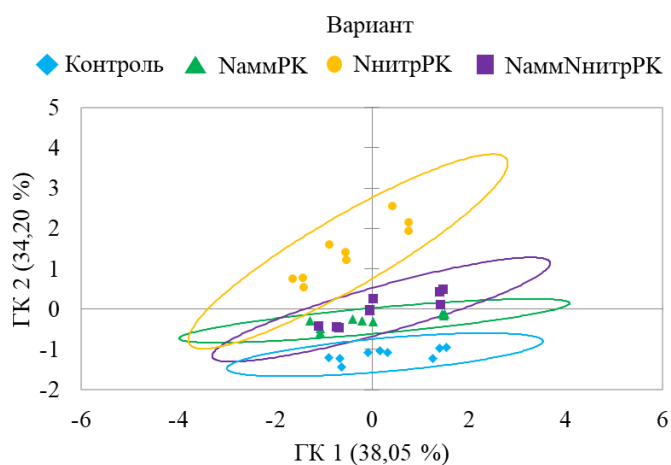
Уреаза в значительной степени реагировала на загрязнение, что не было связано с содержанием иона аммония (рис. 38). Коэффициент корреляции между активностью уреазы и содержанием аммонийного азота в почве оказался невысоким:  $r = 0,23$ ,  $p > 0,01$ . Вероятно, распад мочевины в результате ферментативного гидролиза не являлся основным источником пополнения аммония в почвенном растворе. Это может быть связано с тем, что большая часть образцов представлена вариантами с внесением азотных удобрений, которые и поставляют ион аммония.

Области, соответствующие дозам загрязнения, показаны на рисунке 39. Четкое разделение исследуемых доз поллютанта на осях ГК 1 и ГК 2 свидетельствует о качестве разделения по первым двум компонентам и об адекватности использованных градаций.

В областях, соответствующих формам удобрений (рис. 40), отмечено выраженное разделение по оси ГК 2. Удобрения в вариантах «НаммРК» и «НаммНнитрРК» показывают значительное пересечение, что может демонстрировать сходное действие данных форм удобрений на содержание нитратов, обменного калия в почве и показатели качественного состава биомассы растений, входящих в состав ГК 2. В то время области, соответствующие вариантам «Контроль» и «НнитрРК», наиболее сильно удалены друг от друга. Это свидетельствует о наиболее сильном влиянии нитратной формы удобрений на изменение комплекса показателей.



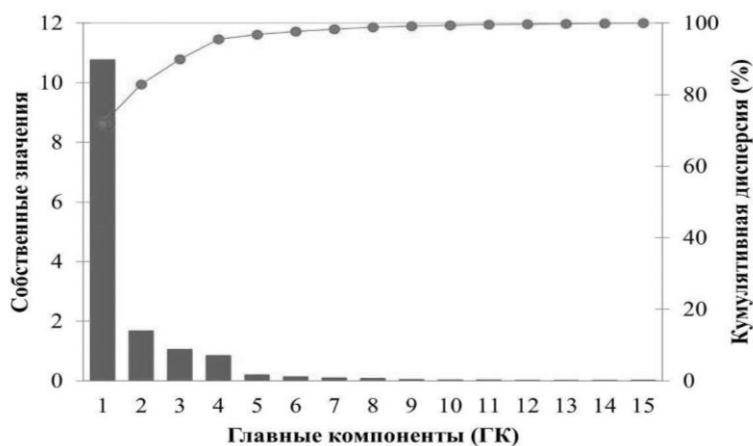
**Рисунок 39.** Биplot по ГК 1 и ГК 2 для олиготрофной торфяной почвы с вариантами, объединенными в области по фактору «доза загрязнения»



**Рисунок 40.** Биplot по ГК 1 и ГК 2 для олиготрофной торфяной почвы с вариантами, объединенными в области по фактору «форма удобрений»

### Чернозем типичный

Анализ главных компонент для чернозема типичного показал, что большую часть вариабельности данных (87,4%) можно описать с помощью трех главных компонент (рис. 41, табл. 54).



**Рисунок 41.** График «каменистой осыпи» для олиготрофной торфяной почвы

**Таблица 54.** Собственные значения (eigenvalues) для факторов (главных компонент) для чернозема типичного

ГК	Собственные значения	% общей дисперсии	Кумулятивные собств. значения	Кумулятивный % общей дисперсии
1	9,995	66,636	9,995	66,636
2	1,894	12,626	11,889	79,262
3	1,226	8,176	13,116	87,437

Три компоненты выделяют три группы факторов, связанных с различными свойствами почв (табл. 55).

**Таблица 55.** Нагрузки факторов (factor loadings) для чернозема типичного

Исследуемый показатель	ГК 1	ГК 2	ГК 3
Биомасса растений	0,737	0,516	0,264
Содержание N в биомассе растений (N)	0,869	0,395	-0,005
Содержание P в биомассе растений (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	0,873	0,357	0,186
Содержание K в биомассе растений (K <sub>2</sub> O)	0,831	0,455	0,143
Содержание нефтепродуктов (НП)	-0,527	-0,549	-0,802
pH <sub>KCl</sub>	0,124	-0,008	0,895
Содержание N-NH <sub>4</sub> в почве	0,315	0,918	0,006
Содержание N-NO <sub>3</sub> в почве	0,911	0,201	-0,031
Содержание P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> в почве	0,199	0,923	-0,058
Содержание K <sub>2</sub> O в почве	0,408	0,852	0,002
Активность каталазы	0,807	0,452	0,286
Активность уреазы	0,916	0,239	0,063
Активность фосфатазы	0,402	0,820	0,312
Количество ДНК бактерий	0,943	0,203	0,163
Количество ДНК архей	0,718	0,538	0,245

ГК 1 представлена набором данных, характеризующими состояние растений (биомасса и содержание в ней NPK), активность ферментов каталазы и уреазы, а также показателями, характеризующими численность прокариот в почве (количество ДНК бактерий и архей). Они составляют группу, описывающую 66,6% изменчивости полученных данных.

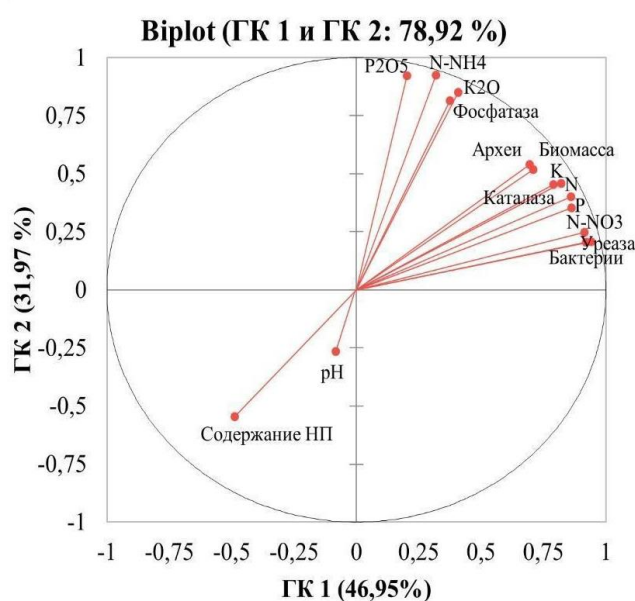
В главную компоненту 2 (ГК 2) попали факторы, характеризующие агрохимические свойства почв (содержание аммонийного азота, подвижного фосфора и обменного калия), а также активность фосфатазы. Отдельно выделились в ГК 3 содержание НП и pH<sub>KCl</sub>.

Все исследованные показатели вносят разный вклад в выделенные компоненты (табл. 56).

**Таблица 56.** Вклад каждой переменной в ГК для чернозема типичного

Исследуемый показатель	ГК 1	ГК 2	ГК 3
Биомасса растений	7,118	5,592	7,016
Содержание N в биомассе растений (N)	10,513	3,340	0,188
Содержание P в биомассе растений (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	10,564	2,603	3,654
Содержание K в биомассе растений (K <sub>2</sub> O)	9,565	4,365	2,459
Содержание нефтепродуктов (НП)	3,374	6,210	16,971
pH <sub>KCl</sub>	0,317	0,046	46,159
Содержание N-NH <sub>4</sub> в почве	1,437	17,843	0,014
Содержание N-NO <sub>3</sub> в почве	12,030	0,877	0,016
Содержание P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> в почве	0,588	17,689	0,127
Содержание K <sub>2</sub> O в почве	2,375	15,093	0,044
Активность каталазы	8,848	4,281	6,409
Активность уреазы	11,871	1,268	0,441
Активность фосфатазы	1,989	13,817	8,971
Количество ДНК бактерий	12,558	0,896	1,935
Количество ДНК архей	6,854	6,080	5,595

Первая главная компонента (ГК 1) наилучшим образом описывается с помощью показателя количества ДНК бактерий и содержанием нитратного азота в почве, их вклад составляет 12,6% и 12,0% соответственно (рис. 42). Чуть меньший вклад вносит активность уреазы - 11,8%. Все эти показатели также обнаруживают тесную корреляцию между собой (табл. 57).



**Рисунок 42.** Биplot по ГК 1 и ГК 2 с векторами изучаемых показателей для чернозема типичного



**Таблица 57.** Коэффициенты корреляции содержания нитратного азота, активности уреазы и количеством ДНК бактерий в черноземе типичном (n = 6)

	Активность уреазы, мг N-NH <sub>4</sub> /10 г почвы	Количество ДНК бактерий, • 10 <sup>8</sup> копий/г
Содержание N-NO <sub>3</sub> , мг/кг	0,82*	0,91*
Активность уреазы, мг N-NH <sub>4</sub> /10 г почвы		0,79*

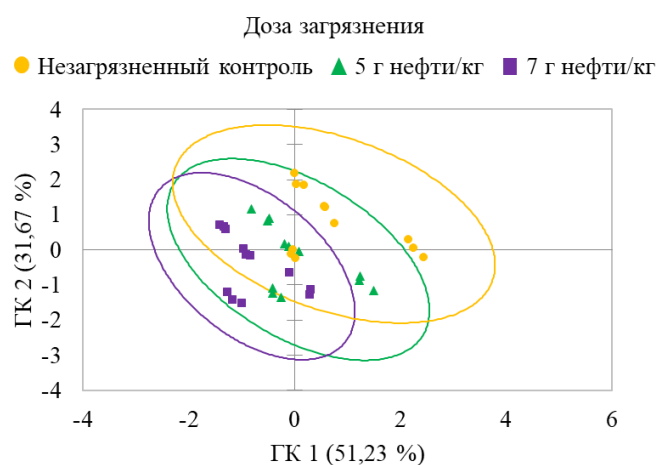
\* коэффициенты корреляции значимы на уровне  $p < 0,01$

Меньший вклад в ГК 1 вносят характеристики состояния растений, что вероятно говорит о высокой буферной способности чернозема типичного. Изменения, происходящие в нефтезагрязненной почве, сильнее отражаются на биологических параметрах самой почвы, чем на произрастающих на ней растениях.

В ГК 2 практически равный вклад (17,8% и 17,7%) принадлежит показателям содержания аммонийного азота и подвижного фосфора. Разделение форм минерального азота по двум компонентам, с преобладающим вкладом именно аммонийного азота, отражается также в соотношении  $N_{NH_4}:N_{NO_3}$  в почве. В черноземе типичном преобладает аммонийная форма, и по мере увеличения загрязнения ее содержание дополнительно возрастает по сравнению с нитратной формой азота.

В ГК 2 совместно выделяется вклад подвижного фосфора и обменного калия, вносимых с минеральными удобрениями. Также в данную компоненту включается активность фосфатазы, по-видимому, больше связана с доступностью субстрата, чем с активностью микроорганизмов.

При выделении областей, соответствующих дозам загрязнения, в черноземе типичном обнаружено их перекрывание (рис. 43), которое может свидетельствовать о высокой буферной способности почвы и устойчивости системы к стресс-фактору.



**Рисунок 43.** Биplot по ГК 1 и ГК 2 для чернозема типичного с вариантами, объединенными в области по фактору «доза загрязнения»

Также, при оценке влияния нефтезагрязнения на исследуемые показатели было обнаружено, что по отношению к некоторым параметрам не наблюдается различий во влиянии разных доз загрязнения. К таким показателям относятся большинство индикаторов, образующих ГК 2 - содержание аммонийного азота, подвижного фосфора и обменного калия в почве.

### 3.7.1. Основные результаты

По результатам проведенного анализа было выделено три главных компонента для каждой исследуемой почвы. Выделенные три группы показателей описывают 85% и 87,4% вариабельности данных, полученных при исследовании олиготрофной торфяной почвы и чернозема типичного соответственно.

Для каждого типа почв было выделено одинаковое число главных компонент, однако показатели, входящие в ГК этих почв, были различны.

Анализ состава ГК 1 показал, что почвы обоих типов содержали набор показателей характеризующих ферментативную активность почв, численность прокариот в почве и продуктивность трав-ремедиантов (табл. 58).

**Таблица 58.** Распределение показателей по главным компонентам для почв

Почва	Олиготрофная торфяная	Чернозем типичный
Главная компонента 1	Биомасса растений Содержание нефтепродуктов (НП) Активность каталазы Активность уреазы Активность фосфатазы Количество ДНК бактерий	Биомасса растений Содержание N в биомассе растений (N) Содержание P в биомассе растений (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) Содержание K в биомассе растений (K <sub>2</sub> O) Содержание N-NO <sub>3</sub> в почве Активность каталазы Активность уреазы Количество ДНК бактерий Количество ДНК архей
Главная компонента 2	Содержание N в биомассе растений (N) Содержание P в биомассе растений (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) Содержание K в биомассе растений (K <sub>2</sub> O) Содержание N-NO <sub>3</sub> в почве Содержание K <sub>2</sub> O в почве	Содержание N-NH <sub>4</sub> в почве Содержание P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> в почве Содержание K <sub>2</sub> O в почве Активность фосфатазы

Почва	Олиготрофная торфяная	Чернозем типичный
Главная компонента 3	Содержание N-NH <sub>4</sub> в почве Содержание P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> в почве	Содержание нефтепродуктов (НП) рН <sub>КС1</sub>

Все эти показатели в большей степени характеризуют «биологический» компонент исследуемой системы. При этом, ГК 1 олиготрофной торфяной почвы содержала показатель активности фосфатазы в почве, а для чернозема типичного данный показатель входил в ГК 2, связанную агрохимическими показателями. В черноземе типичном показатель активности фосфатазы сильнее связан с содержанием подвижного фосфора в почве. Это подтверждается также более высоким коэффициентом корреляции между этими переменными для чернозема типичного ( $r = 0,74$ ,  $p < 0,01$ ), чем для олиготрофной торфяной почвы ( $r = 0,51$ ,  $p < 0,01$ ).

Помимо этого, в состав ГК 1 в олиготрофной торфяной почвы выделяется показатель, характеризующий содержание нефтепродуктов в почве. Как отмечено ранее, среди всех выделенных индикаторов, входящих в состав ГК 1 олиготрофной торфяной почвы, остаточное содержание нефтепродуктов вносит наибольший вклад среди всех остальных переменных этой группы. При анализе данных для чернозема типичного данная переменная была отнесена в третью группу, наряду с кислотностью почвы (табл. 58), которые совместно описывают не более 8,2% общей вариабельности данных. Это говорит о большей буферности чернозема типичного и о гораздо меньшем влиянии нефтезагрязнения на данном типе почв, по сравнению с олиготрофной торфяной. Что подтверждается высокой зависимостью активности всех изученных ферментов с содержанием поллютанта в олиготрофной торфяной почве (табл. 59).

**Таблица 59.** Коэффициенты корреляции между агрохимическими показателями почв и продуктивностью растений ( $n = 9$ )

	Содержание нефтепродуктов, г/кг	
	Олиготрофная торфяная почва	Чернозем типичный
Активность каталазы, см <sup>3</sup> 0,1М KMnO <sub>4</sub> /1 г почвы	-0,90*	-0,66*
Активность уреазы, мг N-NH <sub>4</sub> /10 г почвы	-0,83*	-0,54*
Активность фосфатазы, мг P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> /100 г почвы	-0,91*	-0,89*

\* коэффициенты корреляции значимы на уровне  $p < 0,01$

В состав главной компоненты 1 для чернозема типичного входят также показатели, характеризующие качественный состав растений. В олиготрофной торфяной почве данный набор переменных выделяется в ГК 2, наряду с содержанием нитратов и обменного калия в почве. Стабильность качественного состава растений на органогенной почве больше зависит от агрохимических свойств почвы и условий их произрастания, чем в черноземе типичном.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Влияние нефтезагрязнения проявлялось в изменении содержания основных агрохимических элементов, как в олиготрофной торфяной почве, так и в черноземе типичном. Подтверждено значимое снижение содержания аммонийного и нитратного азота, подвижного фосфора и обменного калия. Интенсивность влияния загрязнения на олиготрофной торфяной почве была в среднем на порядок выше, чем на черноземе типичном. Подвижность фосфора и калия в профиле почвы и доступность для растений сильно снижается в почвах, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, что отмечено другими исследователями (Okonokhua et al, 2010; Wang et al., 2013). Это может быть связано с изменением водно-физических и химических свойств почв в результате обволакивания почвенных частиц пленками нефти.

Снижение продуктивности растений, произрастающих в условиях загрязнения - наиболее часто диагностируемый результат действия нефти и нефтепродуктов (Фахрутдинов, 2005; Сулонов, 2012а, 2012б; Yan et al., 2015; Xie et al., 2018). В нашем исследовании отмечено значительное негативное воздействие загрязнения на продуктивность трав-ремедиантов в изученных почвах, проявившееся сильнее по мере роста дозы загрязнения.

Внесение в почву минеральных удобрений и, как следствие, улучшение условий питания растений закономерно приводило к повышению биомассы растений, что частично снимало эффект загрязнения. Изучение динамики содержания основных макроэлементов в биомассе растений позволило установить негативный эффект нефтезагрязнения не только на общую продуктивность растений, но и на изменение качественного состава растений, проявившееся в снижении содержания азота, фосфора под действием поллютанта на обоих типах почв.

Нефтезагрязнение оказало негативное влияние на работу ферментов в почве, значительно снижая активность каталазы, уреазы и фосфатазы на обоих изучаемых типах почв. Механизм изменений активности может быть связан как непосредственно с их ингибированием, так и с изменением почвенных условий, трансформацией метаболических процессов в почве. На загрязненных почвах наблюдается положительная динамика активности исследуемых ферментов на фоне оптимизации агрохимических свойств почв с помощью удобрений.

Из литературных данных известно, что нефтезагрязнение часто приводит к общему снижению численности микроорганизмов в почвах, наряду с изменением их структуры (Фахрутдинов, 2005; Усачева, 2012; Khan et al., 2018b; Манучарова, 2020, 2021). Снижение численности прокариот отмечено и в нашем исследовании. Сильнее всего угнетение бактериальной биомассы отмечено на торфяной олиготрофной почве, по сравнению с черноземом типичным.

Применение минеральных удобрений привело к увеличению количества ДНК прокариот на обоих исследуемых типах почв, что свидетельствует о благоприятном воздействии применяемых агрохимических средств на численность и активность почвенных прокариот.

На фоне применения удобрений содержание нефтепродуктов в почве значительно снизилось, наиболее заметно - при применении нитратной формы на черноземе типичном и аммонийно-нитратной - на торфяной олиготрофной почве.

Анализ супрессивности исследуемых почв показал наличие более интенсивного воздействия нефтезагрязнения по сравнению с действием патогена *Fusarium solani*. Влияние загрязнения на исследуемую систему, вероятно, оказывается более комплексным и не ограничивается только действием на почвенную биоту.

При применении метода главных компонент выделено несколько групп показателей, вносящих вклад в вариабельность полученных данных. Наибольший вклад вносили показатели, характеризующие биологический компонент: активности ферментов, численность прокариот и продуктивность трав-ремедиантов.

## ВЫВОДЫ

1. Высокий уровень загрязнения нефтью оказал значительное негативное влияние на содержание основных макроэлементов в исследуемых почвах. На олиготрофной торфяной почве содержание минерального азота снизилось на 41-50%, подвижного фосфора – на 24-26%, обменного калия – на 60-62%. На черноземе типичном содержание минерального азота снизилось на 14-22%, подвижного фосфора – на 22-31%, а обменного калия – на 18-26%. Стратегия создания повышенного уровня обеспеченности питательными элементами в торфяной почве и среднего – в чернозёме позволили достичь или превысить уровень обеспеченности макроэлементами, наблюдаемый в незагрязнённой почве.
2. На фоне нефтезагрязнения отмечалось значительное снижение биомассы растений и содержания в них азота, фосфора и калия. При внесении удобрений произошло увеличение биомассы растений на 80-200% на торфяной олиготрофной почве и на 20-70% на черноземе типичном, одновременно с качественным улучшением макроэлементного состава трав-ремедиантов, что говорит о сбалансированных условиях их произрастания. Максимально благоприятные условия для роста и развития растений формировались на фоне внесения аммонийно-нитратной формы удобрений в олиготрофную торфяную почву и нитратной формы удобрений в чернозем типичный
3. Активность ферментов под действием нефтезагрязнения убывала в ряду уреазы > каталазы > фосфатазы в олиготрофной торфяной почве и в ряду каталазы > уреазы > фосфатазы в черноземе типичном. Оптимизация агрохимического фона с помощью минеральных удобрений позволила повысить активность исследуемых ферментов в среднем в 0,7 – 1,4 раза: в олиготрофной торфяной почве в 0,7 – 2,0 раза, в черноземе типичном в 0,9-2,6 раз. Численность прокариот в почвах значительно снизилась на фоне нефтезагрязнения. При применении минеральных удобрений количество ДНК бактерий и архей повысилось на 20-190% в олиготрофной торфяной почве и на 6-93% в черноземе типичном, достигая максимума при применении аммонийно-нитратной и азотной формы удобрений соответственно.
4. Остаточное содержание НП снизилось к концу вегетационного периода на 3-16% в олиготрофной торфяной почве и на 8-18% в черноземе типичном. Наибольшее снижение содержания нефтепродуктов отмечено при применении аммонийно-нитратной формы удобрений на торфяной олиготрофной почве и при применении нитратной формы на черноземе типичном.

5. Нефтезагрязнение оказало более значительный эффект, понизив всхожесть семян в 2-3 раза, по сравнению с влиянием патогена в модельной тест-системе *Fusarium solani* - *Triticum aestivum* L. Тест-культура на торфяной олиготрофной почве показала более высокую чувствительность по сравнению с черноземом типичным.
6. Среди комплекса показателей, определяющих различия в эффективности деструкции нефти в почве и развитии биомассы растений-ремедиантов, максимальное влияние оказывают показатели, характеризующие биологические свойства почвы. Влияние агрохимических показателей сильнее проявлялось на олиготрофной торфяной почве по сравнению с черноземом типичным, что может демонстрировать различия в механизмах трансформации удобрений в разных почвах.



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алиев С.А., Гаджиев Д.А. Влияние загрязнения нефтяным органическим веществом на активность биологических процессов почв // Известия Академии наук Азербайджанской ССР: Серия биологические науки. — 1977. — № 2. — С. 46-49.
2. Ананьева Н.Д. Микробиологические аспекты самоочищения и устойчивости почв / Н.Д. Ананьева. — Москва: Наука, 2003. — 203 с.
3. Арзамазова А.В., Кинжаев Р.Р., Трофимов С.Я. Опыт применения яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в целях фитотестирования нефтезагрязненных почв // Проблемы агрохимии и экологии. — 2016. — Т. 2. — С. 47–51.
4. Бакаева М.Д. Комплексы микромицетов нефтезагрязненных и рекультивируемых почв: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Бакаева Маргарита Дмитриевна. — Уфа, 2004. — 22 с.
5. Бородулина Т.С., Полонский В.И. Влияние нефтезагрязнения почвы на прорастание семян пшеницы и салата / Проблемы развития АПК Саяно-Алтая: материалы межрегиональной научно-практической конференции. — Ч. 2. — 2009. — С. 78-81.
6. Бородулина Т.С., Полонский В.И. Влияние нефтезагрязнения на физиологические характеристики растений пшеницы // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. — 2010. — № 5. — С. 50-55.
7. Бородулина Т.С., Полонский В.И. Последствие различных уровней нефтезагрязнения почвы на процессы прорастания пшеницы и салата // Вестник КрасГАУ. — 2011. — № 5. — С. 33–38.
8. Васильконов Е.С. Особенности рекультивации нефтезагрязненных почв Западной Сибири (на примере территории Среднего Приобья): автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Васильконов Егор Сергеевич. — М., 2009. — 26 с.
9. Веселовский В.А., Вшивцев В.С. Биотестирование загрязнения среды нефтью по реакции фотосинтетического аппарата растений // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем: Сборник научных трудов. — М.: Наука, 1988. — С. 99-112.
10. Воробейчик Е.Л., Садыков О.Ф., Фарафонов М.Г. Экологическое нормирование техногенных загрязнений наземных экосистем (локальный уровень) / Е.Л. Воробейчик, О.Ф. Садыков, М.Г. Фарафонов. — Екатеринбург: УИФ «Наука», 1994. — 260 с.
11. Габбасова И.М., Абдрахманов Р.Ф. Изменение свойств почв и состава грунтовых вод при загрязнении нефтью и нефтепромысловыми сточными водами Башкирии // Почвоведение. — 1997. — № 11. — С. 1362-1372.

12. Галстян Г.Ш. Унификация методов определения активности ферментов почв // Почвоведение. — 1978. — № 2. — С. 107-114.
13. Гальцова А.Д. Влияние нефтезагрязнения на продуктивность ячменя и агрохимические свойства чернозема выщелоченного и темно-серой лесной почвы / Материалы Международного молодежного научного форума «Ломоносов-2019». — 2019. — С. 111-112.
14. Гилязов М.Ю. Агроэкологическая характеристика нарушенных при нефтедобыче черноземов и приемы их рекультивации в условиях Закамья Татарстана: автореф. дис. ... док. с/х наук: 06.01.04 / Гилязов Миннегали Юсупович. — Казань, 1999. — 43 с.
15. Глинушкин А.П., Соколов М.С., Торопова Е.Ю. Фитосанитарные и гигиенические требования к здоровой почве / А.П. Глинушкин, М.С. Соколов, Е.Ю. Торопова — М.: «Агрорус», 2016. — 288 с.
16. Градина Н.И., Напрасникова Е.В. Влияние загрязнения нефтепродуктами на свойства почв (на примере Иркутской области) // Вестник Тамбовского университета. Серия: естественные и технические науки. — 2014. — Т. 19, № 5. — С. 1393-1396.
17. Даурбекова Р.С., Дугиева А.Я., Арчакова Р.Д., Эльдиева З.Б. Влияние естественной загрязненности почв на развитие сельскохозяйственных культур // Фундаментальные исследования. — 2012. — № 9-2. — С. 268-272.
18. Девятова Т.А. Биоэкологические принципы мониторинга и диагностики загрязнения почв // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. — 2005. — № 1. — С. 105-106.
19. Девятова Т.А. Биодиагностика техногенного загрязнения почв // Экология и промышленность России. — 2006. — № 1. — С. 36-37.
20. Девятова Т.А., Стороженко Н.В., Костылев И.Н. Биодиагностика уровня техногенного загрязнения почв по ферментативной активности / Современные проблемы загрязнения почв: материалы докладов II международной конференции. — 2007. — Т. 2. — С. 338-341.
21. Егоров В.В., Иванова Е.Н., Фридланд В.М. Классификация и диагностика почв СССР / В.В. Егоров, Е.Н. Иванова, В.М. Фридланд. — М.: Колос, 1977. — 225 с.
22. Ефремов А.Л. Ферментативная активность и свободные аминокислоты в почвах пойменных лугов Белорусского Полесья // Почвоведение. — 2003. — № 7. — С. 828-834.
23. Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Д.Г. Звягинцев. — М.: МГУ, 1991. — 304 с.
24. Звягинцев Д.Г., Гузев В.С., Левин С.В. Изменения в комплексе почвенных микроорганизмов при антропогенных воздействиях // Успехи почвоведения: Советские почвоведы к XIII Международному конгрессу почвоведов. — 1986. — С. 64-68.

25. Иванова Н.А., Корчагина Л.Е., Вернигорова Ю.Н. Влияние нефтяного загрязнения почв на ферментативную активность микроорганизмов и функциональные особенности растений // Перспективы науки. — 2015. — № 9 (72). — С. 142-146.
26. Исмаилов Н.М. Микробиология и ферментативная активность нефтезагрязненных почв // Восстановление почвенных экосистем: Сборник научных трудов. — М.: Наука, 1988. — С. 42-56.
27. Исмаилов Н.М., Гаджиев В.И., Гасанов М.Г. Коэффициент минерализации углеводов как показатель самоочищающей способности нефтезагрязненных почв и эффективности применяемых методов рекультивации // Известия Академии наук Азербайджанской ССР: Серия биологические науки. — 1984. — № 6. — С. 75-85.
28. Каримуллин Л.К., Петров А.М., Вершинин А.А. Ответная реакция микробных сообществ на нефтяное загрязнение почв // Журнал экологии и промышленной безопасности. — 2016. — № 2 (66). — С. 49-50.
29. Касаткина Г.А., Федорова Н.Н. Влияние нефтезагрязнения на свойства почв морских террас Финского залива / Современные проблемы загрязнения почв: материалы докладов II международной конференции. — 2007. — С. 377-381.
30. Киреева Н.А. Микробиологические процессы в нефтезагрязненных почвах: дис. ... докт. биол. наук: 03.00.23 / Киреева Наиля Афняховна. — СПб, 1996. — 322 с.
31. Киреева Н.А., Водопьянов В.В., Мифтахова А.М. Биологическая активность нефтезагрязненных почв / Н.А. Киреева, В.В. Водопьянов, А.М. Мифтахова. — Уфа: Гилем, 2001. — 376 с.
32. Киреева Н.А., Галимзянова Н.Ф., Мифтахова А.М. Микромицеты почв, загрязненных нефтью, и их фитотоксичность // Микология и фитопатология. — 2000. — Т. 34, № 1. — С. 36-41.
33. Киреева Н.А., Новоселова Е.И., Григориади А.С. Влияние загрязнения почв нефтью на физиологические показатели растений и ризосферную микробиоту // Агрохимия. — 2009. — № 7. — С. 71-80.
34. Киреева Н.А., Новосёлова Е.И., Хазиев Ф.Х. Использование активного ила для рекультивации почв, загрязненных нефтью // Почвоведение. — 1996. — № 11. — С. 1399-1403.
35. Киреева Н.А., Рафикова Г.Ф., Щемелинина Т.Н., Маркарова М.Ю. Биологическая активность загрязненных нефтью и рекультивируемых торфяно-глеевых почв Республики Коми // Агрохимия. — 2008. — № 8. — С. 68-75.

36. Киреева Н.А., Тишкина Е.И. Ускорение биодеструкции нефтяных загрязнений при рекультивации почв // Актуальные вопросы биотехнологии: межвузовский сборник «Актуальные вопросы биотехнологии». — 1990. — С. 36–44.
37. Ковалева Е.И., Яковлев А.С., Пашкевич Е.Б. Нормирование нефтепродуктов в почвах в условиях вегетационного опыта (на примере зональных и интразональных почв острова Сахалин) // Проблемы агрохимии и экологии. — 2019. — № 3. — С. 60-67.
38. Колесников С.И. Использование показателей биологической активности в целях мониторинга, диагностики и нормирования нефтезагрязненных почв / Экология и биология почв: Материалы международной конференции. — 2005. — С. 218-223.
39. Колесников С.И., Казеев К.Ш., Татосян М.Л., Вальков В.Ф. Влияние загрязнения нефтью и нефтепродуктами на биологическое состояние чернозема обыкновенного // Почвоведение. — 2006. — № 5. — С. 616-620.
40. Кольцова Т.Г., Сунгатуллина Л.М., Григорьян Б.Р., Башкиров В.Н. Оценка фитотоксичности черноземных почв в условиях нефтяного загрязнения // Вестник Казанского технологического университета. — 2014. — Т. 17, № 5. — С. 261-267.
41. Кольцова Т.Г., Сунгатуллина Л.М., Григорьян Б.Р., Петров А.М. Влияние нефтяного загрязнения на фитотоксичность дерново-карбонатных почв // Вестник Казанского технологического университета. — 2015. — Т. 18, № 1. — С. 376-382.
42. Коновалова Е.В., Корсунова Т.М. Динамика ферментативной активности нефтезагрязненных почв с использованием мелиоранта *in vitro* // Вестник Бурятской сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова. — 2014. — № 3 (36). — С. 376-382.
43. Коротченко И.С., Кириенко Н.Н. Ферментативная активность чернозема выщелоченного, загрязненного медью // Вестник КрасГАУ. — 2014. — №3. — С. 103-109.
44. Кочетков И.А., Лазарева И.О. Влияние некоторых загрязнителей на показатели биологической активности почв // Вопросы экологии и охраны природы в лесостепной и степной зонах: Международный межведческий сборник научных трудов. — Самара: СГУ, 1999. — С. 160-165.
45. Мальгина С.П. Нефтедобыча как фактор засоления почв / Отражение био-, гео-, антропоферных взаимодействий в почвах и почвенном покрове: сборник материалов V Международной научной конференции, посвященной 85-летию кафедры почвоведения и экологии почв ТГУ. — Томск: ТГУ, 2015. — С. 432-436.
46. Манучарова Н.А. Молекулярно-биологические методы в почвоведении и экологии / Н.А. Манучарова. — М.: «Университетская книга», 2014. — 68 с.

47. Манучарова Н.А., Ксенофонтова Н.А., Белов А.А., Каменский Н.Н., Арзамазова А.В. Прокариотный компонент нефтезагрязненной торфяной олиготрофной почвы при разном уровне минерального питания // Почвоведение. — 2021. — № 1. — С. 80-89.
48. Манучарова Н.А., Ксенофонтова Н.А., Каримов Т.Д., Власова А.П., Зенова М.Г., Степанов А.Л. Изменение филогенетической структуры метаболически активного прокариотного комплекса почв под влиянием нефтяного загрязнения // Микробиология. — 2020. — Т. 89, № 2. — С. 222–234.
49. Маркелов В.В., Меньших С.А. Биотехнологические аспекты биоремедиации нефтезагрязненных почв / Наука и молодёжь в XXI веке: материалы Всероссийской студенческой научной конференции. — 2015. — С. 99-103.
50. Марченко С.А. Индикация загрязнения почвы стойкими органическими загрязнителями по функциональной реакции микробного сообщества: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Марченко Сергей Анатольевич. — Москва, 2008. — 23 с.
51. Марченко С.А., Кожевин П.А., Соколов М.С. Функциональная реакция микробного сообщества почвы как индикатор загрязнения стойкими органическими загрязнителями // Агро XXI. — 2008. — № 7-9. — С. 24-27.
52. Медведева Е.И. Биологическая активность нефтезагрязненных почв в условиях Среднего Поволжья: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Медведева Елизавета Игоревна. — Самара, 2002. — 211 с.
53. Мехоношина Т.Н. Трансформация растительности при нефтедобыче // Антропогенная трансформация природной среды. — 2017. — № 3. — С. 114–116.
54. Минеев В.Г. Практикум по агрохимии / О.А. Амелянчик, Т.Н. Большева, Н.Ф. Гомонова, Е.П. Дурынина, В.С. Егоров, Е.В. Егорова, Н.Л. Едемская, Е.А. Карпова, В.Г. Минеев, В.Г. Прижукова, В.Г. Сычев: под. ред. В.Г. Минеева. — М.: «Московский государственный университет», 2001. — 688 с.
55. Мифтахова А.М. Самоочищение и восстановление плодородия почв природных и антропогенных экосистем в условиях нефтяного загрязнения: дис. ... докт. биол. наук: 03.00.16 / Мифтахова Айсылу Мансафовна. — Уфа, 2006. — 361 с.
56. Муратова А.Ю. Растительно-микробные ассоциации в условиях углеводородного загрязнения: автореф. дис. ... док. биол. наук: 03.02.03 / Муратова Анна Юрьевна. — Саратов, 2013. — 48 с.
57. Муромцев Г.С., Маршунов Г.Н., Черникова Н.К. Применение метода разведений для установления количества микробов-антагонистов в почве // Микология и фитопатология. — 1976. — Т. 10, № 2. — С. 150–153.

58. Назаров А.В. Влияние нефтяного загрязнения на растения // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. — 2007. — № 5. — С. 134
59. Назарюк В.М., Калимуллина Ф.Р. Роль удобрений в азотном питании растений при загрязнении почвы нефтью // Агрехимия. — 2020. — № 4. — С. 76-84.
60. Неделин Н.А., Чижевская М.В., Фомина Н.В. Биологическая диагностика почвы техногенно-загрязненного ландшафта // Актуальные проблемы авиации и космонавтики. — 2013. — № 1 (9). — С. 278-279.
61. Новоселова Е.И. Экологические аспекты трансформации ферментного пула почвы при нефтяном загрязнении и рекультивации: дис. ... докт. биол. наук: 03.00.27, 03.00.16 / Новоселова Евдокия Ивановна. — Уфа, 2008. — 334 с.
62. Новоселова Е.И., Киреева Н.А., Гарипова М.И. Роль ферментативной активности почв в осуществлении ею трофической функции в условиях нефтяного загрязнения // Вестник Башкирского университета. — 2014. — Т. 19, № 2. — С. 474-479.
63. Новоселова Е.И., Тухватуллина А.Ф. Роль ферментативной активности в осуществлении почвой трофической функции в условиях нефтяного загрязнения // Вестник Оренбургского государственного университета. — 2009. — № 6 (112). — С. 592-593.
64. Орлова Е.Е., Копцева Е.М., Веселова А.В. Почвенно-геоботаническая характеристика территорий Ямало-Ненецкого автономного округа, подверженных аварийным разливам нефти / Почвенные ресурсы Сибири: вызовы XXI века: Сборник материалов Всероссийской научной конференции. — 2017. — С. 103-107.
65. Отчик Д.В. Влияние нефтепродуктов на живые организмы / Экологическое краеведение: материалы всероссийской научно-практической конференции. — 2015. — С. 52-54.
66. Пиковский Ю.И. Природные и техногенные потоки углеводородов в окружающей среде / Ю.И. Пиковский. — М.: МГУ, 1993. — 221 с.
67. Пиковский Ю.И. Трансформация техногенных потоков нефти в почвенных экосистемах // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем: Сборник научных трудов. — М.: Наука, — 1988. — С. 7-22.
68. Письмо Роскомзема от 27.03.1995 N 3-15/582 "О Методических рекомендациях по выявлению деградированных и загрязненных земель" (вместе с «Методическими рекомендациями по выявлению деградированных и загрязненных земель», утв. Роскомземом 28.12.1994, Минсельхозпродом России 26.01.1995, Минприроды России 15.02.1995)
69. Плешакова Е.В. Эколого-функциональные аспекты микробной ремедиации нефтезагрязнённых почв: автореф. дис. ... докт. биол. наук : 03.02.08 / Плешакова Екатерина Владимировна. — Саратов, 2010. — 48 с.

70. Полонский В.И., Полякова И.С. Флуктуирующая асимметрия листьев: механизм формирования и применение в фитоиндикации // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. — 2016. — № 15. — С. 506–510.
71. Рахимова Э.Р., Гарусов А.В., Зарипова С.К. Биологическая активность нефтезагрязненной почвы при засолении // Почвоведение. — 2005. — № 4. — С. 481-485.
72. Рогозина Е.А. Актуальные вопросы проблемы очистки нефтезагрязненных почв // Нефтегазовая геология. Теория и практика. — 2006. — Т. 1. — С. 1–11.
73. Русанов А.М., Мисетов И.А., Шорина Т.С. К вопросу диагностики и оценки загрязненных нефтью черноземов // Вестник Томского государственного университета. — 2012. — № 364. — С. 219-224.
74. Сангаджиева Л.Х., Даваева Ц.Д., Булуктаев А.А. Влияние нефтяного загрязнения на фитотоксичность светло-каштановых почв Калмыкии // Вестник КалмГУ. — 2013. — № 1 (17). — С. 44–47.
75. Светлакова Т.Н., Мандрица С.А., Боронникова С.В., Суслонов А.В. Оценка изменчивости морфологических признаков *Trifolium pratense* L. в условиях нефтяного загрязнения почв // Вопросы современной науки и практики. Университет им. В. И. Вернадского. — 2010. — № 1 (3). — С. 16-22.
76. Седых В.Н., Игнатъев Л.А. Влияние отходов бурения и нефти на физиологическое состояние растений // Сибирский экологический журнал. — 2002. — № 1. — С. 47-52.
77. Семенов А.М., Семенова Е.В. Способ определения параметра здоровья у образцов почвы, компостов и других твердых субстратов / Материалы Международной научно-практической конференции «Современные проблемы гербологии и оздоровления почв». — 2016. — С. 291-298.
78. Семенов А.М., Семенов В.М., Ван Бругген А.Х.К. Диагностика здоровья и качества почв // Агрохимия. — 2011. — № 12. — С. 4–20.
79. Сергатенко С.Н., Федорова И.Л., Игнатова Т.Д. Влияние нефтяного загрязнения на активность почвенных ферментов класса оксидоредуктаз и гидролаз // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. — 2022. — Т. 230, № 3 (59). — С. 83–88.
80. Смирнова Т.С., Панина Ю.Ю. Мониторинг углеводородного загрязнения почвы посредством анализа ее ферментативной активности // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. — 2015. — № 12. — С. 33-38.
81. Созина И.Д., Данилов А.С. Микробиологическая ремедиация нефтезагрязненных почв // Записки горного института. — 2023. — Т. 260. — С. 297–312.

82. Соколов М.С., Дородных Ю.Л. Здоровая почва - основа нашего благополучия // Защита и карантин растений. — 2009. — № 8. — С. 11–14.
83. Соколов М.С., Дородных Ю.Л., Марченко А.И. Здоровая почва как необходимое условие жизни человека. // Почвоведение. — 2010. — № 7. — С. 858–866.
84. Соколов М.С., Марченко А.И., Санин С.С., Торопова Е.Ю., Чулкина В.А., Захаров А.Ф. Здоровье почвы агроценозов как атрибут ее качества и устойчивости к биотическим и абиотическим стрессорам // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. — 2009. — № 1. — С. 13–22.
85. Соколов М.С., Терехов В.И. Современная концепция биологической защиты растений // Агрехимия. — 1995. — № 4. — С. 41–49.
86. Сулейманов Р.Р., Абдрахманов Т.А., Жаббаров З.А. Ферментативная активность и агрохимические свойства лугово-аллювиальной почвы в условиях нефтяного загрязнения // Самарская Лука. — 2007. — Т. 16, №. 3 (21). — С. 575-580.
87. Сулейманов Р.Р., Габбасова И.М., Ситдииков Р.Н. Изменение свойств нефтезагрязненной серой лесной почвы в процессе биологической рекультивации // Известия РАН. — 2005. — № 1. — С. 109–115.
88. Сулейманов Р.Р., Назырова Ф.И. Изменение буферности почв при загрязнении нефтепродуктами водами и сырой нефтью // Вестник Оренбургского государственного университета. — 2007. — № 4 (68). — С. 133-139.
89. Сулейманов Р.Р., Назырова Ф.И., Габбасова И.М. Изменение физико-химических свойств чернозема типичного в условиях загрязнения нефтепродуктами сточными водами и рекультивации // Вестник Оренбургского университета. — 2008. — № 9 (91). — С. 167-173.
90. Сулонов А.В. Влияние нефтяного загрязнения почв на формирование растительного покрова // Молодой ученый. — 2012. — № 3. — С. 116-118.
91. Сулонов А.В. Морфогенетические изменения *Poa pratensis* L. и морфологические изменения *Trifolium pratense* L. вследствие длительного нефтяного загрязнения // Современные проблемы науки. — 2012. — № 3. — С. 28-33.
92. Сычев В.Г., Афанасьев Р.А., Мерзлая Г.Е., Ступакова Г.А. Урожайность и качество сельскохозяйственных культур при выращивании на почве, загрязненной нефтью // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. — 2014. — № 4. — С. 34–37.
93. Тарасенко Е.М., Женин Р.И. Микробиологическая трансформация нефти в почве / Тезисы 14 Комиреспубликанской молодежной научной конференции. — 2000. — С. 221.
94. Торопова Е.Ю. Экологические основы защиты растений от болезней в Сибири: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16, 06.01.11 / Торопова Елена Юрьевна — Новосибирск, 2005. — 370 с.



95. Патент № 2568913 Российская Федерация, МПК G01N 33/00 (2006/01), С1. Способ определения супрессивности почвы / Торопова Е.Ю., Кириченко А.А.; заявитель ФГБОУ ВО Новосибирский государственный аграрный университет № 2014126924/15; заявл. 01.07.2014; опубл. 20.11.2015, Бюл. № 32. — 5 с.
96. Торопова Е.Ю., Кириченко А.А., Трунов Р.Ю. Супрессивность ризосферной почвы сортов яровой пшеницы к грибам рода *Fusarium* Link. // Материалы научно-практической конференции: Актуальные проблемы агропромышленного комплекса. — 2020. — С. 45–48.
97. Торопова Е.Ю., Селюк М.П., Казакова О.А., Соколов М.С., Глинушкин А.П. Методические указания по определению супрессирующей активности почвы / Материалы Международной научно-практической конференции «Современные проблемы гербологии и оздоровления почв». — 2016. — С. 324-362.
98. Торопова Е.Ю., Селюк М.П., Казакова О.А., Соколов М.С., Глинушкин А.П. Факторы индукции супрессивности почвы агроценозов // Агрохимия. — 2017. — № 4. — С. 51–64.
99. Торопова Е.Ю., Соколов М.С., Глинушкин А.П. Индукция супрессивности почвы - важнейший фактор лимитирования вредности корневых инфекций // Агрохимия. — 2016. — № 8. — С. 44-55.
100. Трофимов С.Я., Ковалева Е.И., Аветов Н.А., Толпешта И.И. Исследования нефтезагрязненных почв и перспективные подходы к их ремедиации // Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение. — 2023. — Т. 78, № 4. — С. 83–93.
101. Трофимов С.Я., Фокин А.Д., Дорофеева Е.И., Кошелева Ю.П. Фитодиагностика нефтяного загрязнения чернозема выщелоченного в условиях модельного эксперимента // Вестник Московского университета. Серия: Почвоведение. — 2008. — № 1. — С. 29-32.
102. Усачева Ю.Н. Методы биоиндикации в оценке нефтяных почв при рекультивационных работах // Экология и промышленность России. — 2012. — № 11. — С. 40-43.
103. Фахрутдинов А.И. Микробиологическая и ферментативная активность почв и грунтов при рекультивации нефтезагрязненных территорий: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.07 / Фахрутдинов Айвар Инталович. — Сургут, 2005. — 125 с.
104. Филипчук О.Д., Соколов М.С., Павлова Т.В. Использование супрессивности почвы в защите растений от корневых инфекций // Агрохимия. — 1997. — № 8. — С. 81–92.
105. Фомина Н.В. Ферментативная активность нефтезагрязненного почвогрунта после применения биоактивного сорбента // Эпоха науки. — 2016. — № 7. — С. 36-45.
106. Хабиров И.К., Габбасова И.М., Хазиев Ф.Х. Устойчивость почвенных процессов / И.К. Хабиров, И.М. Габбасова, Ф.Х. Хазиев. — Уфа: Изд-во БГАУ, 2001. — 327 с.

107. Хазиев Ф.Х. Системно-экологический анализ ферментативной активности почв / Ф.Х. Хазиев. — М.: Наука, 1982. — 204 с.
108. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии / Ф.Х. Хазиев. — М.: Наука, 2005. — 251 с.
109. Чугунова М.В. Особенности биодеградации нефти в почвах северо-запада России // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. — 2011. — № 5 (1). — С. 110-117.
110. Чулкина В.А., Торопова Е.Ю., Стецов Г.Я. Экологические основы интегрированной защиты растений / В.А. Чулкина, Е.Ю. Торопова, Г.Я. Стецов. — Москва: Колос, 2007 — 568 с.
111. Чулкина В.А., Торопова Е.Ю., Стецов Г.Я. Интегрированная защита растений: фитосанитарные системы и технологии / В.А. Чулкина, Е.Ю. Торопова, Г.Я. Стецов. — Москва: Колос, 2009. — 670 с.
112. Чупахина Г.Н., Масленников П.В. Адаптация растений к нефтяному стрессу // Экология. — 2004. — № 5. — С. 330-335.
113. Шамраев А.В., Шорина Т.С. Влияние нефти и нефтепродуктов на различные компоненты окружающей среды // Вестник Оренбургского государственного университета. — 2009. — №6 (100). — С. 642-645.
114. Шамрай С.Н., Глущенко В.И. Основы полевых исследований в фитопатологии и иммунологии / С.Н. Шамрай, В.И. Глущенко. — Харьков: ХНУ имени В.Н. Каразина, 2006. — 64 с.
115. Шаркова С.Ю. Изменение химических характеристик почвы под действием нефтезагрязнения // Известия Пензенского государственного университета им. В.Г. Белинского. — 2011. — № 25. — С. 610-613.
116. Шаркова С.Ю., Надежкина Е.В. Агрехимические свойства серых лесных почв при загрязнении их нефтью // Плодородие: Научно-практический журнал. — 2008. — № 4. — С. 45.
117. Швец А.А. Фиторемедиация загрязненных нефтью почв в условиях Северо-Западного Кавказа: автореф. дис. ... канд. с-х. наук: 06.01.03 / Швец Александр Александрович. — Краснодар, 2009. — 23 с.
118. Шигапов А.М. Биоремедиация нефтезагрязненных почв органическими компонентами отходов лесозаготовительной промышленности (на примере дерново-подзолистых почв Уральского федерального округа): дис. ... докт. биол. наук : 03.02.08 / Шигапов Айрат Минимарсильевич. — Екатеринбург, 2016. — 228 с.
119. Шишов Л.Л., Тонконогов В.Д., Лебедева И.И. Классификация и диагностика почв России / Л.Л. Шишов, В.Д. Тонконогов, И.И. Лебедева. — Смоленск: «Ойкумена», 2004, — 341 с.

120. Щемелина Т.Н. Биологическая активность нефтезагрязненных почв Крайнего Севера на разных стадиях их восстановления и при рекультивации (на примере Усинского района Республики Коми): дис. ... канд. биол. наук: 03.00.27, 03.00.16 / Щемелина Татьяна Николаевна. — Сыктывкар, 2008. — 138 с.
121. Abdullah S.R.S., Al-Baldawi I.A., Almansoori A.F., Purwanti I.F., Al-Sbani N.H., Sharuddin S.S. Plant-assisted remediation of hydrocarbons in water and soil: Application, mechanisms, challenges and opportunities // *Chemosphere*. — 2020. — Vol. 247. — P. 125932.
122. Agnello A.C., Bagard M., van Hullebusch E.D., Esposito G., Huguenot D. Comparative bioremediation of heavy metals and petroleum hydrocarbons co-contaminated soil by natural attenuation, phytoremediation, bioaugmentation and bioaugmentation-assisted phytoremediation // *Science of The Total Environment*. — 2016. — Vol. 563–564. — P. 693–703.
123. Al-Baldawi I.A., Abdullah S.R.S., Anuar N., Mushrifah I. Bioaugmentation for the enhancement of hydrocarbon phytoremediation by rhizobacteria consortium in pilot horizontal subsurface flow constructed wetlands // *International Journal of Environmental Science and Technology*. — 2017. — Vol. 14, № 1. — P. 75–84.
124. Alrumman S.A., Standing D.B., Paton G.I. Effects of hydrocarbon contamination on soil microbial community and enzyme activity // *Journal of King Saud University — Science*. — 2015. — Vol. 27, № 1. — P. 31–41.
125. Bailey K.L., Lazarovits G. Suppressing soil-borne diseases with residue management and organic amendments // *Soil and Tillage Research*. — 2003. — Vol. 72, № 2. — P. 169–180.
126. Banks M.K., Schultz K.E. Comparison of plants for germination toxicity tests in petroleum-contaminated soils // *Water, Air, Soil Pollution*. — 2005. — Vol. 167, № 1–4. — P. 211–219.
127. Banks M.K., Schwab P., Liu B., Kulakow P.F., Smith J.S., Kim R. The effect of plants on the degradation and toxicity of petroleum contaminants in soil: a field assessment // *Advances in biochemical engineering: Biotechnology*. — 2003. — № 78. — P. 75–96.
128. Barnett S.J., Roget D.K., Ryder M.H. Suppression of *Rhizoctonia solani* AG-8 induced disease on wheat by the interaction between *Pantoea*, *Exiguobacterium*, and *Microbacteria* // *Soil Research*. — 2006. — Vol. 44, № 4. — P. 331–342.
129. Bongiorno G., Postma J., Bünemann E.K., Brussaard L., de Goede R.G.M., Mäder P., Tamm L., Thuerig B. Soil suppressiveness to *Pythium ultimum* in ten European long-term field experiments and its relation with soil parameters // *Soil Biology and Biochemistry*. — 2019. — Vol. 133. — P. 174–187.

130. Borowik A., Wyszowska J. Response of *Avena sativa* L. and the soil microbiota to the contamination of soil with Shell diesel oil // *Plant, Soil and Environment*. — 2018. — № 3 (64). — P. 102-107.
131. Borrero C., Trillas M.I., Ordovás J., Tello J.C., Avilés M. Predictive Factors for the Suppression of fusarium wilt of tomato in plant growth media // *Phytopathology*. — 2004. — Vol. 94, № 10. — P. 1094–1101.
132. Chandrashekara C., Ranvider K., Bhat J.C., Chandrashekara K.N. Suppressive soils in plant disease management // *Eco-friendly innovative approaches in Plant Disease Management*. — 2012. — P. 241–256.
133. Chen W., Hoitink H.A.J., Schmitthenner A.F. Factors affecting supression of *Pythium* damping-off in container media amended with composts. // *Phytopathology*. —1987. — № 77. — P. 755–760.
134. Cohen M.F., Yamasaki H., Mazzola M. *Brassica napus* seed meal soil amendment modifies microbial community structure, nitric oxide production and incidence of *Rhizoctonia* root rot // *Soil Biology and Biochemistry*. — 2005. — Vol. 37, № 7. — P. 1215–1227.
135. Cook R.J., Baker K.F. The nature and practice of biological control of plant pathogens / R.J. Cook, K.F. Baker. — St.Paul: American Phytopathological Society, 1983. — 539 p.
136. Cook R.J. Plant health management: pathogen suppressive soils / R.J. Cook // *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*. — [s.l.]: Elsevier, 2014. — P. 441–455.
137. Cook R.J., Schillinger W.F., Christensen N.W. *Rhizoctonia* root rot and take-all of wheat in diverse direct-seed spring cropping systems // *Canadian Journal of Plant Pathology*. — 2002. — Vol. 24, № 3. — P. 349–358.
138. Cotxarrera L., Trillas-Gay M.I., Steinberg C. Alabouvette C. Use of sewage sludge compost and *Trichoderma asperellum* isolates to suppress *Fusarium* wilt of tomato // *Soil Biology and Biochemistry* — 2002. — Vol. 34, № 4. — P. 467–476.
139. Declercq I., Cappuyns V., Duclos Y. Monitored natural attenuation (MNA) of contaminated soils: state of the art in Europe — A critical evaluation // *Science of The Total Environment*. — 2012. — Vol. 426. — P. 393–405.
140. Diab E.A. Phytoremediation of oil contaminated desert soil using the rhizosphere effects // *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*. — 2008. — Vol. 4 (6). — P. 604–610.
141. Diab H.G., Hu S., Benson D.M. Suppression of *Rhizoctonia solani* on impatiens by enhanced microbial activity in composted swine waste-amended potting mixes // *Phytopathology*. — 2003. — Vol. 93, № 9. — P. 1115–1123.
142. Doran J.W., Sarrantonio M., Liebig M. Soil health and sustainability // *Advances in Agronomy*. — 1996. — Vol. 56. — P. 1–54.

143. Doran J.W., Zeiss M.R. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality // *Applied Soil Ecology*. — 2000. — Vol. 15, № 1. — P. 3–11.
144. Erhart E., Burian K., Hartl W., Stich K. Suppression of *Pythium ultimum* by biowaste composts in relation to compost microbial biomass, activity and content of phenolic compounds // *Journal of Phytopathology*. — 1999. — Vol. 147, № 5. — P. 299–305.
145. Fravel D., Olivain C., Alabouvette C. *Fusarium oxysporum* and its biocontrol // *New Phytologist*. — 2003. — Vol. 157, № 3. — P. 493–502.
146. García-Sánchez M., Košnář E., Mercl F., Aranda E., Tlustoš P. A comparative study to evaluate natural attenuation, mycoaugmentation, phytoremediation, and microbial-assisted phytoremediation strategies for the bioremediation of an aged PAH-polluted soil // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. — 2018. — Vol. 147. — P. 165–174.
147. Gerhardt K.E., Gerwing P.D., Greenberg B.M. Opinion: Taking phytoremediation from proven technology to accepted practice // *Plant Science*. — 2017. — Vol. 256. — P. 170–185.
148. Glick B.R. Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment // *Biotechnology Advances*. — 2003. — Vol. 21, № 5. — P. 383–393.
149. Glick B.R. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation // *Biotechnology Advances*. — 2010. — Vol. 28, № 3. — P. 367–374.
150. Govaerts B., Mezzalama M., Unno Y., Sayre K.D., Luna-Guido M., Vanherck K., Dendooven L., Deckers J. Influence of tillage, residue management, and crop rotation on soil microbial biomass and catabolic diversity // *Applied Soil Ecology*. — 2007. — Vol. 37, № 1–2. — P. 18–30.
151. Guarino C., Spada V., Sciarrillo R. Assessment of three approaches of bioremediation (Natural Attenuation, Landfarming and Bioaugmentation – Assisted Landfarming) for a petroleum hydrocarbons contaminated soil // *Chemosphere*. — 2017. — Vol. 170. — P. 10–16.
152. Gürtler S., Souza Filho C.R., Sanches I.D., Alves M.N., Oliveira W.J. Determination of changes in leaf and canopy spectra of plants grown in soils contaminated with petroleum hydrocarbons // *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*. — 2018. — Vol. 146. — P. 272–288.
153. Haas D., Défago G. Biological control of soil-borne pathogens by *Fluorescent pseudomonads* // *Nature Reviews Microbiology*. — 2005. — Vol. 3, № 4. — P. 307–319.
154. Haider F.U., Ejaz M., Cheema S.A., Khan M.I., Zhao B., Liqun C., Salim M.A., Naveed M.A., Khan N., Núñez-Delgado A., Mustafa A. Phytotoxicity of petroleum hydrocarbons: Sources, impacts and remediation strategies // *Environmental Research*. — 2021. — Vol. 197. — P. 111031.
155. Haritash A.K., Kaushik C.P. Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review // *Journal of Hazardous Materials*. — 2009. — Vol. 169, № 1–3. — P. 1–15.

156. Hawrot-Paw M., Wijatkowski A., Mikiciuk M. Influence of diesel and biodiesel fuel-contaminated soil on microorganisms, growth and development of plants // *Plant Soil Environment*. — 2015. — Vol. 61, № 5. — P. 189–194.
157. He M., Ma W., Tian G., Blok W., Khodzaeva A., Zelenev V.V., Semenov A.M., van Bruggen A.H.C. Daily changes of infections by *Pythium ultimum* after a nutrient impulse in organic versus conventional soils // *Phytopathology*. — 2010. — Vol. 100, № 6. — P. 593–600.
158. Hesnawi R.M., Adbeib M.M. Effect of nutrient source on indigenous biodegradation of diesel fuel contaminated soil // *APCBEE Procedia*. — 2013. — Vol. 5. — P. 557–561.
159. Hoitink H.A.J., van Doren D.M.J., Schmitthenner A.F. Suppression of *Phytophthora cinnamomi* in a composted hardwood bark potting medium. // *Phytopathology*. — 1977. — Vol. 67. — P. 561–565.
160. Hoitink H.A.J., Boehm M. Biocontrol within the context of soil microbial communities: A substrate-dependent phenomenon // *Annual Review of Phytopathology*. — 1999. — Vol. 37, № 1. — P. 427–446.
161. Hornby D. Suppressive soils // *Annual Review of Phytopathology*. — 1983. — Vol. 21, № 1. — P. 65–85.
162. Hunter P.J., Petch G.M., Calvo-Bado L.A., Pettitt T.R., Parsons N.R., Morgan J.A.W., Whipps J.M. Differences in microbial activity and microbial populations of peat associated with suppression of damping-off disease caused by *Pythium sylvaticum* // *Applied and Environmental Microbiology*. — 2006. — Vol. 72, № 10. — P. 6452–6460.
163. Hussain I. Puschenreiter M., Gerhard S., Sani S.G.A., Khan W., Reichenauer T.G. Differentiation between physical and chemical effects of oil presence in freshly spiked soil during rhizoremediation trial // *Environmental Science and Pollution Research*. — 2019. — Vol. 26, № 18. — P. 18451–18464.
164. Ibrahim M., Ijan U., Manga S., Bilbis L.S., Umar S. Production and partial characterization of biosurfactant produced by crude oil degrading bacteria // *International Biodeterioration and Biodegradation*. — 2013. — № 81. — P. 28-34.
165. Innemanová P., Filipová A., Michalíková K., Wimmerová L., Cajthaml T. Bioaugmentation of PAH-contaminated soils: A novel procedure for introduction of bacterial degraders into contaminated soil // *Ecological Engineering*. — 2018. — Vol. 118. — P. 93–96.
166. Ishimoto H., Fukushi Y., Tahara S. Non-pathogenic *Fusarium* strains protect the seedlings of *Lepidium sativum* from *Pythium ultimum* // *Soil Biology and Biochemistry*. — 2004. — Vol. 36, № 3. — P. 409–414.
167. Issoufi I., Rhykerd R.L., Smiciklas K.D. Seedling growth of agronomic crops in crude oil contaminated soil // *Journal of Agronomy and Crop Science*. — 2006. — № 4 (192). — P. 310-317.

168. Janvier C., Villeneuve F., Alabouvette C., Edel-Hermann V., Mateille T., Steinberg C. Soil health through soil disease suppression: Which strategy from descriptors to indicators? // *Soil Biology and Biochemistry*. — 2007. — Vol. 39, № 1. — P. 1–23.
169. Jonker M.T.O., Brils, J.M., Sinke, A.J.C., Murk A.J., Koelmans A.A. Weathering and toxicity of marine sediments contaminated with oils and polycyclic aromatic hydrocarbons // *Environment Toxicology and Chemistry*. — 2006. — Vol. 25, № 5. — P. 1345-1353.
170. Khan M., Biswas B., Smith E., Naidu R., Megharaj M. Toxicity assessment of fresh and weathered petroleum hydrocarbons in contaminated soil – a review // *Chemosphere*. — 2018. — Vol. 212. — P. 755-767.
171. Khan M., Biswas B., Smith E., Mahmud S.A., Hasan N.A., Khan M.A.W., Naidu R., Megharaj M. Microbial diversity changes with rhizosphere and hydrocarbons in contrasting soils // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. — 2018. — Vol. 156. — P. 434–442.
172. Kirk J.L., Klironomos J.N., Lee H., Trevors J.T. The effects of perennial ryegrass and alfalfa on microbial abundance and diversity in petroleum contaminated soil // *Environment Pollution*. — 2005. — Vol. 133, № 3. — P. 455–465.
173. Kisić I., Mešić S., Basic F., Brkić V., Mešić M., Durn G., Zgorelec Z., Bertović L. The effect of drilling fluids and crude oil on some chemical characteristics of soil and crops // *Geoderma*. — 2009. — Vol. 149 (3-4). — P. 209-216.
174. Knudsen I.M.B., Larsen K.M., Jensen D.F., Hockenhull J. Potential suppressiveness of different field soils to *Pythium* damping-off of sugar beet // *Applied Soil Ecology*. — 2002. — Vol. 21, № 2. — P. 119–129.
175. Košnář Z., Částková T., Wiesnerová L., Praus L., Jablonský I., Koudela M., Tlustoš P. Comparing the removal of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil after different bioremediation approaches in relation to the extracellular enzyme activities // *Journal of Environmental Sciences*. — 2019. — Vol. 76. — P. 249–258.
176. Košnář Z., Mercl F., Tlustoš P. Ability of natural attenuation and phytoremediation using maize (*Zea mays* L.) to decrease soil contents of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) derived from biomass fly ash in comparison with PAHs–spiked soil // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. — 2018. — Vol. 153. — P. 16–22.
177. Krause M.S., Madden L.V., Hoitink H.A.J. Effect of potting mix microbial carrying capacity on biological control of *Rhizoctonia* damping-off of radish and *Rhizoctonia* crown and root rot of poinsettia // *Phytopathology*. — 2001. — Vol. 91, № 11. — P. 1116–1123.

178. Kronenberg M., Trably E., Bernet N., Patureau D. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons: Using microbial bioelectrochemical systems to overcome an impasse // *Environmental Pollution*. — 2017. — Vol. 231. — P. 509–523.
179. Lv H., Su X., Wang Y., Dai Z., Liu M. Effectiveness and mechanism of natural attenuation at a petroleum-hydrocarbon contaminated site // *Chemosphere*. — 2018. — Vol. 206. — P. 293–301.
180. Martí M.C., Camejo D., Fernández-García N., Rellán-Álvarez R., Marques S., Sevilla F., Jiménez A. Effect of oil refinery sludges on the growth and antioxidant system of alfalfa plants // *Journal of Hazardous Materials*. — 2009. — Vol. 171, № 1–3. — P. 879–885.
181. Martin F.N. Development of alternative strategies for management of soilborne pathogens currently controlled with methyl bromide // *Annual Review of Phytopathology*. — 2003. — Vol. 41, № 1. — P. 325–350.
182. Maurhofer M. Influence of enhanced antibiotic production in *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 on its disease suppressive capacity // *Phytopathology*. — 1992. — Vol. 82, № 2. — P. 190.
183. Mazzola M., Granatstein D.M., Elfving D.C., Mullinix K. Suppression of specific apple root pathogens by *Brassica napus* seed meal amendment regardless of glucosinolate content // *Phytopathology*. — 2001. — Vol. 91, № 7. — P. 673–679.
184. Mazzola M., Gu Y. H. Wheat genotype-specific induction of soil microbial communities suppressive to disease incited by *Rhizoctonia solani* anastomosis group (AG)-5 and AG-8 // *Phytopathology*. — 2002. — Vol. 92, № 12. — P. 1300–1307.
185. Mazzola M. Assessment and management of soil microbial community structure for disease suppression // *Annual Review of Phytopathology*. — 2004. — Vol. 42, № 1. — P. 35–59.
186. Miller J.D. Aspects of the ecology of *Fusarium* toxins in cereals / J.D. Miller. // *Mycotoxins and Food Safety Advances in Experimental Medicine and Biology*. — MA: Springer US, 2002. — P. 19–27.
187. Mirshal I. Soil pollution. / I. Mirshal. — Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2008. — 301 p.
188. Mori T., Sakurai M. Effects of riboflavin and increased sucrose on anthocyanin production in suspended strawberry cell cultures // *Plant Science*. — 1995. — № 1 (110). — P. 147–153.
189. Nadim F., Hoag G.F., Liu S., Carley R.J., Zack P. Detection and remediation of soil and aquifer systems contaminated with petroleum products: an overview // *Journal of Petroleum Science and Engineering*. — 2000. — Vol. 26, № 1–4. — P. 169–178.
190. Nelson E.B., Hoitink H.A.J. The role of microorganisms in the suppression of *Rhizoctonia solani* in container media amended with composted hardwood bark // *Phytopathology*. — 1983. — Vol. 73. — P. 274–278.



191. Nie M., Zhang X., Wang J., Jiang L., Yang J., Quan Z., Cui X., Fang C., Li B. Rhizosphere effects on soil bacterial abundance and diversity in the Yellow River Deltaic ecosystem as influenced by petroleum contamination and soil salinization // *Soil Biology and Biochemistry*. — 2009. — Vol. 41, № 12. — P. 2535–2542.
192. Noble R., Coventry E. Suppression of soil-borne plant diseases with composts: A review // *Biocontrol Science and Technology*. — 2005. — Vol. 15, № 1. — P. 3–20.
193. O'Brien P.L., DeSutter T.M., Casey F.X.M., Casey A.F., Khan E. Evaluation of soil function following remediation of petroleum hydrocarbons - a review of current remediation techniques // *Current Pollution Reports*. — 2017. — Vol. 3, № 3. — P. 192-205.
194. Oerke E.C. Crop losses to pests // *The Journal of Agricultural Science*. — 2006. — Vol. 144, № 1. — P. 31–43.
195. Okonokhua B., Ikhajiagbe B., Anoliefo G., Emede T. The effects of spent engine oil on soil properties and growth of maize (*Zea mays* L.) // *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*. — 2010. — Vol. 11, № 3. — P. 147–152.
196. Pane C., Spaccini R., Piccolo A., Scala F., Bonanomi G. Compost amendments enhance peat suppressiveness to *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia minor* // *Biological Control*. — 2011. — Vol. 56, № 2. — P. 115–124.
197. Pankhurst C.E., McDonald H.J., Hawke B.G., Kirkby C.A. Effect of tillage and stubble management on chemical and microbiological properties and the development of suppression towards cereal root disease in soils from two sites in NSW, Australia // *Soil Biology and Biochemistry*. — 2002. — Vol. 34, № 6. — P. 833–840.
198. Postma J., Schilder M.T., Bloem J., van Leeuwen-Haagsma W.K. Soil suppressiveness and functional diversity of the soil microflora in organic farming systems // *Soil Biology and Biochemistry*. — 2008. — Vol. 40, № 9. — P. 2394–2406.
199. Russell P.E. Fungicide resistance: occurrence and management // *The Journal of Agricultural Science*. — 1995. — Vol. 124, № 3. — P. 317–323.
200. Sabuquillo P., De Cal A., Melgarejo P. Dispersal improvement of a powder formulation of *Penicillium oxalicum*, a biocontrol agent of tomato wilt // *Plant Disease*. — 2005. — Vol. 89, № 12. — P. 1317–1323.
201. Sánchez-Moreno S., Ferris H. Suppressive service of the soil food web: Effects of environmental management // *Agriculture, Ecosystems & Environment*. — 2007. — Vol. 119, № 1–2. — P. 75–87.
202. Scheuerell S.J., Mahaffee W.F. Compost tea as a container medium drench for suppressing seedling damping-off caused by *Pythium ultimum* // *Phytopathology*. — 2004. — Vol. 94, № 11. — P. 1156–1163.

203. Schlatter D., Kinkel L., Thomashow L., Weller D., Paulitz T. Disease suppressive soils: new insights from the soil microbiome // *Phytopathology*. — 2017. — Vol. 107, № 11. — P. 1284–1297.
204. Shen W., Zhu N., Cui J., Wang H., Dang Z., Wu P., Luo Y., Shi C. Ecotoxicity monitoring and bioindicator screening of oil-contaminated soil during bioremediation // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. — 2016. — Vol. 124. — P. 120–128.
205. Singh O.V., Jain R.K. Phytoremediation of toxic aromatic pollutants from soil // *Applied Microbiology and Biotechnology*. — 2003. — Vol. 63, № 2. — P. 128–135.
206. Soleimani M., Afyuni M., Hajabbasi M., Nourbakhsh F., Sabzalian M., Christensen J.H. Phytoremediation of an aged petroleum contaminated soil using endophyte infected and non-infected grasses // *Chemosphere*. — 2010. — Vol. 81, № 9. — P. 1084–1090.
207. Stone A.G., Vallad G.E., Cooperband L.R., Rotenberg D., Darby H.M., James R.V., Stevenson W.R., Goodman R.M. Effect of organic amendments on soilborne and foliar diseases in field-grown snap bean and cucumber // *Plant Disease*. — 2003. — Vol. 87, № 9. — P. 1037–1042.
208. Suja F., Rahim F., Taha M.R., Hambali N., Rizal Razali M., Khalid A., Hamzah A. Effects of local microbial bioaugmentation and biostimulation on the bioremediation of total petroleum hydrocarbons (TPH) in crude oil contaminated soil based on laboratory and field observations // *International Biodeterioration & Biodegradation*. — 2014. — Vol. 90. — P. 115–122.
209. Tamm L. Organic agriculture: development and state of the art // *Journal of Environmental Monitoring*. — 2001. — Vol. 3, № 6. — P. 92–96.
210. Tamm L., Thürig D., Bruns C., Fuchs J.G., Köpke U., Laustela M., Leifert C., Mahlberg N., Nietlispach B., Schmidt C., Weber F., Fließbach A. et al. Soil type, management history, and soil amendments influence the development of soil-borne (*Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*) and air-borne (*Phytophthora infestans*, *Hyaloperonospora parasitica*) diseases // *European Journal of Plant Pathology*. — 2010. — Vol. 127, № 4. — P. 465–481.
211. Tang J., Lu X., Sun Q., Zhu W. Aging effect of petroleum hydrocarbons in soil under different attenuation conditions // *Agriculture, Ecosystems and Environment*. — 2012. — № 149. — P. 109–117.
212. Tang J., Wang M., Wang F., Sun Q., Zhou Q. Eco-toxicity of petroleum hydrocarbon contaminated soil // *Journal of Environmental Sciences*. — 2011. — Vol. 23, № 5. — P. 845–851.
213. Thuerig B., Fliessbach A., Berger N., Fuchs J.G., Kraus N., Mahlberg N., Nietlispach B., Tamm L. Re-establishment of suppressiveness to soil- and air-borne diseases by re-inoculation of soil microbial communities // *Soil Biology and Biochemistry*. — 2009. — Vol. 41, № 10. — P. 2153–2161.
214. Tilston E.L., Pitt D., Groenhof A.C. Composted recycled organic matter suppresses soil-borne diseases of field crops // *New Phytologist*. — 2002. — Vol. 154, № 3. — P. 731–740.

215. Turgay O.C., Erdogan E.E., Karaca A. Effect of humic deposit (leonardite) on degradation of semi-volatile and heavy hydrocarbons and soil quality in crude-oil-contaminated soil // *Environmental Monitoring and Assessment*. — 2010. — Vol. 170, № 1–4. — P. 45–58.
216. van Elsas J.D., Garbeva P., Salles J. Effects of agronomical measures on the microbial diversity of soils as related to the suppression of soil-borne plant pathogens // *Biodegradation*. — 2002. — Vol. 13, № 1. — P. 29–40.
217. van Os G.J., van Ginkel J.H. Suppression of *Pythium* root rot in bulbous Iris in relation to biomass and activity of the soil microflora // *Soil Biology and Biochemistry*. — 2001. — Vol. 33, № 11. — P. 1447–1454.
218. Varjani S.J. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons // *Bioresource Technology*. — 2017. — Vol. 223. — P. 277–286.
219. Varjani S.J., Upasani V.N. A new look on factors affecting microbial degradation of petroleum hydrocarbon pollutants // *International Biodeterioration & Biodegradation*. — 2017. — Vol. 120. — P. 71–83.
220. Vázquez-Luna D. Biological indices of toxicity in tropical legumes grown in oil-contaminated soil // *Ecological Indicators*. — 2015. — Vol. 53. — P. 43–48.
221. Wang J., Liu X., Zhang X., Liang X., Zhang W. Growth response and phytoremediation ability of reed for diesel contaminant // *Procedia Environmental Sciences*. — 2011. — Vol. 8. — P. 68–74.
222. Wang J., Zhang X., Ling W., Liu R., Liu J., Kang F., Gao Y. Contamination and health risk assessment of PAHs in soils and crops in industrial areas of the Yangtze River Delta region, China // *Chemosphere*. — 2017. — Vol. 168. — P. 976–987.
223. Wang J., Zhang X., Su Y., He W., He F., Song H. Phytoremediation of petroleum polluted soil // *Petroleum Science*. — 2008. — Vol. 5, № 2. — P. 167–171.
224. Wang Y., Feng J., Lin Q., Lyu X., Wang X., Wang G. Effects of crude oil contamination on soil physical and chemical properties in Momoge wetland of China // *Chinese Geographical Science*. — 2013. — Vol. 23, № 6. — P. 708–715.
225. Weller D.M., Raaijmakers J.M., Gardener B.B., Thomashow L.S. Microbial populations responsible for specific suppression to plant pathogens // *Annual Review of Phytopathology*. — 2002. — Vol. 40, № 1. — P. 309–348.
226. White P.M., Kirkpatrick W.D., Wolf D.C., Thoma G.J. Phytoremediation of crude oil contaminated soil // *International Petroleum Environmental Conference* — 2001.
227. Widmer T.L., Mitkowski N.A., Abawi G.S. Soil organic matter and management of plant-parasitic nematodes // *Journal of Nematology*. — 2002. — Vol. 34, № 4. — P. 289–295

228. Wiltse C.C., Rooney W.L., Chen Z., Schwab A.P., Banks M.K. Greenhouse evaluation of agronomic and crude oil — phytoremediation potential among alfalfa genotypes // *Journal of Environmental Quality*. — 1998. — Vol. 27, № 1. — P. 169–173.
229. Wiseman B.M., Neate S.M., Keller K.O., Smith S.E. Suppression of *Rhizoctonia solani* anastomosis group 8 in Australia and its biological nature // *Soil Biology and Biochemistry*. — 1996. — Vol. 28, № 6. — P. 727–732.
230. Wu M., Dick W.A., Li W., Wang X., Yang Q., Wang T., Xu L., Zhang M., Chen L. Bioaugmentation and biostimulation of hydrocarbon degradation and the microbial community in a petroleum-contaminated soil // *International Biodeterioration & Biodegradation*. — 2016. — Vol. 107. — P. 158–164.
231. Wu M., Ma C., Wang D., Liu H., Zhu C., Xu H. Nutrient drip irrigation for refractory hydrocarbon removal and microbial community shift in a historically petroleum-contaminated soil // *Science of The Total Environment*. — 2020. — Vol. 713. — P. 136331.
232. Wyszowska J., Kucharski J. Correlation between number of microbes and degree of soil contamination by petrol // *Polish Journal of Environmental Studies*. — 2013. — № 3 (10). — P. 175–181.
233. Xie W., Li R., Li X., Liu P., Yang H., Wu T., Zhang Y. Different responses to soil petroleum contamination in monocultured and mixed plant systems // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. — 2018. — Vol. 161. — P. 763–768.
234. Xu J.G., Johnson R.L. Nitrogen dynamics in soils with different hydrocarbon contents planted to barley and field pea // *Canadian Journal of Soil Science*. — 1997. — Vol. 77, № 3. — P. 453–458.
235. Yadav R.S., Panwar J., Meena H.N., Thirumalaisamy P.P., Meena R.L. Developing disease-suppressive soil through agronomic management / M.K. Meghvansi, A. Varma. // *Organic amendments and soil suppressiveness in plant disease management soil biology*. — Cham: Springer International Publishing, 2015. — C. 61–94.
236. Yan L., Penttinen P., Simojoki A., Stoddard F., Lindström K. Perennial crop growth in oil-contaminated soil in a boreal climate // *Science of The Total Environment*. — 2015. — Vol. 532. — P. 752–761.
237. Ying X., Dongmei J., Judong L., Zhenyu W. Plant-microbe interactions to improve crude oil degradation // *Energy Procedia*. — 2011. — Vol. 5. — P. 844–848.

## ПРИЛОЖЕНИЯ

### Приложение 1.

#### Показатели, используемые при исследовании влияния нефтезагрязнения на почвенные свойства и растения

Показатель	Характер исследования	В сравнении с чем	Количество измерений	Период	Ссылка на исследование
Содержание нефтепродуктов	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на свойства почв</li> <li>▪ Влияние нефти на растительность</li> <li>▪ Естественные процессы рекультивации</li> <li>▪ Ускоренные процессы рекультивации</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контролем)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> <li>▪ С вариантом без рекультивации</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Однократно</li> <li>▪ Дважды</li> <li>▪ В динамике</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ После рекультивации</li> <li>▪ До посева культур, после уборки культур</li> <li>▪ На 3 и 365-е сутки с момента загрязнения</li> <li>▪ Через 8 месяцев после загрязнения</li> </ul>	Рахимова, 2005; Сулейманов, 2007; Киреева и др., 2008; Русанов, 2012; Гранина, Напрасникова, 2014; Кольцова, 2014; Кольцова, 2015; Ковалева и др., 2019; Назарюк, 2020
<b>Физические свойства почв</b>					
Влажность	Влияние нефти на свойства почв	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> <li>▪ С различным составом нефтепродуктов</li> <li>▪ С различной давностью загрязнения</li> </ul>	Однократно	Не указывается	Даурбекова и др., 2012
Объемный вес					
Удельный вес частиц					
Коэффициент пористости					
Пористость					
Число пластичности					

Показатель	Характер исследования	В сравнении с чем	Количество измерений	Период	Ссылка на исследование
Предел текучести					
Гигроскопич. влага					
<b>Агрохимические свойства</b>					
Содержание гумуса	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на растительность</li> <li>▪ Ускоренные процессы рекультивации</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контролем)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> <li>▪ С различным составом нефтепродуктов</li> <li>▪ С различной давностью загрязнения</li> <li>▪ С вариантом без рекультивации</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Однократно</li> <li>▪ Дважды</li> <li>▪ В динамике</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Не указывается</li> <li>▪ До посева культур, после уборки культур</li> <li>▪ На 10 и 20 сутки, в фазу колошения</li> </ul>	Сулейманов, 2007а; Киреева и др., 2009; Даурбекова, 2012; Назарюк, 2020
Содержание органического вещества	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на свойства почв</li> <li>▪ Влияние нефти на почвенные ферменты</li> <li>▪ Влияние нефти на растительность</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контролем)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> </ul>	Однократно	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Не указывается</li> <li>▪ До посева культур</li> </ul>	Сангаджиева, 2013; Гранина, Напрасникова, 2014; Новоселова, 2014; Ковалева и др., 2019
Общий азот	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на свойства почв</li> <li>▪ Влияние нефти на растительность</li> <li>▪ Ускоренные процессы рекультивации</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контролем)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> <li>▪ С вариантом без рекультивации</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Однократно</li> <li>▪ Дважды</li> <li>▪ В динамике</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Не указано</li> <li>▪ До посева культур, после уборки культур</li> <li>▪ На 10 и 20 сутки, в фазу колошения</li> </ul>	Сулейманов, 2007; Киреев и др., 2009; Назарюк, 2020

Показатель	Характер исследования	В сравнении с чем	Количество измерений	Период	Ссылка на исследование
Аммонийный азот Нитратный азот	Влияние нефти на почвенные ферменты	С различными дозами загрязнения	Однократно	Не указано	Новоселова, 2014
Легкогидролиз. азот	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на растительность</li> <li>▪ Ускоренные процессы рекультивации</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контролем)</li> <li>▪ С вариантом без рекультивации</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Однократно</li> <li>▪ Дважды</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ После рекультивации</li> <li>▪ До посева культур, после уборки культур</li> </ul>	Киреева и др., 2008; Ковалева и др., 2019; Назарюк, 2020
Среднегидролиз. азот					
Трудногидролиз. азот					
Потенциальная нитрификационная способность	Ускоренные процессы рекультивации	С вариантом без рекультивации	Дважды	До посева культур, после уборки культур	Назарюк, 2020
Подвижный фосфор	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на почвенные ферменты</li> <li>▪ Влияние нефти на растительность</li> <li>▪ Ускоренные процессы рекультивации</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контролем)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> <li>▪ С вариантом без рекультивации</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Однократно</li> <li>▪ Дважды</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ После рекультивации</li> <li>▪ До посева культур, после уборки культур</li> </ul>	Киреева и др., 2008; Новоселова, 2014; Ковалева и др., 2019; Назарюк, 2020
Обменный калий	Ускоренные процессы рекультивации	С вариантом без рекультивации	Дважды	До посева культур, после уборки культур	Назарюк, 2020; Ковалева и др., 2019
Подвижный калий	Ускоренные процессы рекультивации	С незагрязненным вариантом (контролем)	Однократно	После рекультивации	Киреева и др., 2008
Обменные основания	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на почвенные ферменты</li> <li>▪ Ускоренные процессы рекультивации</li> </ul>	С различными дозами загрязнения	Однократно	Не указано	Сулейманов, 2007а; Новоселова, 2014

Показатель	Характер исследования	В сравнении с чем	Количество измерений	Период	Ссылка на исследование
Обменный натрий	Ускоренные процессы рекультивации	С различными дозами загрязнения	Однократно	Не указано	Сулейманов, 2007а
рН водной вытяжки	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на свойства почв</li> <li>▪ Влияние нефти на почвенные ферменты</li> <li>▪ Влияние нефти на растительность</li> <li>▪ Ускоренные процессы рекультивации</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контролем)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Однократно</li> <li>▪ Дважды</li> <li>▪ В динамике</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Не указано</li> <li>▪ До посева культур, после уборки культур</li> <li>▪ На 10 и 20 сутки, в фазу колошения</li> </ul>	Сулейманов, 2007, 2007а; Киреева и др., 2009; Даурбекова и др., 2012; Новоселова, 2014; Ковалева и др., 2019
Емкость катионного обмена	Ускоренные процессы рекультивации	С различными дозами загрязнения	Однократно	Не указано	Сулейманов, 2007а
Буферная площадь					
<b>Активность ферментов в почве</b>					
Протеаза	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на почвенные ферменты</li> <li>▪ Влияние нефти на растительность</li> <li>▪ Ускоренные процессы рекультивации</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контролем)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> <li>▪ С различными почвами</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Однократно</li> <li>▪ Дважды</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Не указано</li> <li>▪ Через 8 месяцев после загрязнения</li> <li>▪ До и после рекультивации</li> <li>▪ На стадии загрязнения 7 и 30 суток</li> <li>▪ Через 1, 3 месяца после загрязнения нефтью</li> </ul>	Рахимова, 2005; Новоселова, 2009 Неделин, 2013; Новоселова, 2014; Иванова и др., 2015; Каримуллин и др., 2016; Фомина, 2016
Инвертаза	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на свойства почве</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контроль)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Однократно</li> <li>▪ Дважды</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Не указано</li> </ul>	Колесников, 2006; Сулейманов, 2007;



Показатель	Характер исследования	В сравнении с чем	Количество измерений	Период	Ссылка на исследование
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на почвенные ферменты</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> <li>▪ С различным составом нефтепродуктов</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ В динамике</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ До и после рекультивации</li> <li>▪ На 3, 30 и 120 сутки с момента загрязнения</li> </ul>	Неделин, 2013; Иванова и др., 2015
Каталаза	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на свойства почв</li> <li>▪ Влияние нефти на почвенные ферменты</li> <li>▪ Ускоренные процессы рекультивации</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контроль)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> <li>▪ С различным составом нефтепродуктов</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Однократно</li> <li>▪ Дважды</li> <li>▪ В динамике</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Не указано</li> <li>▪ После рекультивации</li> <li>▪ До и после рекультивации</li> <li>▪ На стадии загрязнения 7 и 30 суток</li> <li>▪ На 3, 30 и 120 сутки с момента загрязнения</li> <li>▪ На 6, 12, 18, 24, 30 и 36 сутки после внесения загрязнителя</li> <li>▪ На 5, 30, 90, 310 и 365-е сутки с момента загрязнения</li> </ul>	Колесников, 2006; Сулейманов, 2007; Киреева и др., 2008; Русанов, 2012; Неделин, 2013; Коновалова, 2014; Каримуллин и др., 2016; Фомина, 2016
Уреаза	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на свойства почв</li> <li>▪ Влияние нефти на почвенные ферменты</li> <li>▪ Влияние нефти на растительность</li> <li>▪ Ускоренные процессы рекультивации</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контроль)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> <li>▪ С различным составом нефтепродуктов</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Однократно</li> <li>▪ Дважды</li> <li>▪ В динамике</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Не указано</li> <li>▪ Через 8 месяцев после загрязнения</li> <li>▪ До и после рекультивации</li> <li>▪ На стадии загрязнения 7 и 30 суток</li> </ul>	Рахимова, 2005; Колесников, 2006; Сулейманов, 2007; Новоселова, 2009; Неделин, 2013; Гранина, Напрасникова, 2014; Коновалова, 2014; Новоселова, 2014;

Показатель	Характер исследования	В сравнении с чем	Количество измерений	Период	Ссылка на исследование
				<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Через 1, 3 месяца после загрязнения нефтью</li> <li>▪ На 3, 30 и 120 сутки с момента загрязнения</li> <li>▪ На 6, 12, 18, 24, 30 и 36 сутки после внесения загрязнителя</li> </ul>	Каримуллин и др., 2016; Фомина, 2016
Целлюлаза	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на почвенные ферменты</li> <li>▪ Естественные процессы рекультивации</li> <li>▪ Ускоренные процессы рекультивации</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> <li>▪ С различным составом нефтепродуктов</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Однократно</li> <li>▪ В динамике</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Через 1 месяц после загрязнения нефтью</li> <li>▪ На 3, 30 и 120 сутки с момента загрязнения</li> <li>▪ Через 3 сут, 1, 6 и 12 месяцев после загрязнения</li> <li>▪ На 5, 30, 90, 310 и 365-е сутки с момента загрязнения</li> </ul>	Колесников, 2006; Новоселова, 2009; Русанов, 2012; Новоселова, 2014
Дегидрогеназа	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на почвенные ферменты</li> <li>▪ Влияние нефти на растительность</li> <li>▪ Ускоренные процессы рекультивации</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контроль)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> <li>▪ С различным составом нефтепродуктов</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Однократно</li> <li>▪ В динамике</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ После рекультивации</li> <li>▪ Через 1 месяц после загрязнения</li> <li>▪ Через 8 месяцев после загрязнения</li> <li>▪ На 6,12,18,24,30 и 36 сутки после внесения загрязнителя</li> </ul>	Рахимова, 2005; Киреева и др., 2008; Новоселова, 2009; Коновалова, 2014
Липаза	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на растительность</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контроль)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Однократно</li> <li>▪ Дважды</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ После рекультивации</li> <li>▪ Через 8 месяцев после загрязнения</li> </ul>	Рахимова, 2005; Киреева и др., 2008;

Показатель	Характер исследования	В сравнении с чем	Количество измерений	Период	Ссылка на исследование
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Ускоренные процессы рекультивации</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ До и после рекультивации</li> </ul>	Фомина, 2016
Аспарагиназа	Влияние нефти на почвенные ферменты	С различными дозами загрязнения	Дважды	Через 1, 3 месяца после загрязнения нефтью	Новоселова, 2009, 2014
Нитритредуктаза					
Нитратредуктаза					
Глутаминаза					
Показатели, характеризующие биологические свойства почв					
Дыхательная активность	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на почвенные ферменты</li> <li>▪ Влияние нефти на растительность</li> <li>▪ Естественные процессы рекультивации</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контроль)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> <li>▪ С различным составом нефтепродуктов</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Однократно</li> <li>▪ В динамике</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Не указано</li> <li>▪ Через 8 месяцев после загрязнения</li> <li>▪ На 3, 30 и 120 сутки с момента загрязнения</li> <li>▪ В динамике на протяжении 60-ти месяцев</li> <li>▪ На 5, 30, 90, 310 и 365-е сутки с момента загрязнения</li> </ul>	Рахимова, 2005; Колесников, 2006; Чугунова, 2011; Русанов, 2012; Неделин, 2013
Качественный состав микроорганизмов	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на почвенные ферменты</li> <li>▪ Влияние нефти на растительность</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контроль)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> <li>▪ С различным составом нефтепродуктов</li> </ul>	В динамике	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ На 3, 30 и 120 сутки с момента загрязнения</li> <li>▪ На 10 и 20 сутки после посева растений, в фазу колошения</li> </ul>	Бакаева, 2004; Колесников, 2006; Киреева и др., 2009; Русанов, 2012

Показатель	Характер исследования	В сравнении с чем	Количество измерений	Период	Ссылка на исследование
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на почвенные организмы</li> <li>▪ Естественные процессы рекультивации</li> </ul>			<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ На 5, 30, 90, 310 и 365-е сутки с момента загрязнения</li> </ul>	
Численность аэробных углеродородокисл. микроорганизмов	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на растительность</li> <li>▪ Естественные процессы рекультивации</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контроль)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Однократно</li> <li>▪ В динамике</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Через 8 месяцев после загрязнения</li> <li>▪ На 10 и 20 сутки после посева растений, в фазу колошения</li> <li>▪ На 5, 30, 90, 310 и 365-е сутки с момента загрязнения</li> </ul>	Рахимова, 2005; Киреева и др., 2009; Русанов, 2012
Фитотоксичность почвы	Влияние нефти на почвенные ферменты	С различными дозами загрязнения С различным составом нефтепродуктов	В динамике	На 3, 30 и 120 сутки с момента загрязнения	Колесников, 2006
Интегральный показатель биологического состояния почвы					
Геоботанические описания					
Видовой состав сообщества	Естественные процессы рекультивации	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контроль)</li> <li>▪ С различной давностью загрязнения</li> </ul>	Однократно	Не указано	Суслонов, 2012; Орлова, 2017
Видовая насыщенность					
Общее проективное покрытие растительности					

Показатель	Характер исследования	В сравнении с чем	Количество измерений	Период	Ссылка на исследование
Проективное покрытие по биологическим группам					
Определение растительной ассоциации					
Показатели фитотестирования тест-культур					
Всхожесть семян	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на растительность</li> <li>▪ Степень токсичности загрязненных почв</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контроль)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> <li>▪ С различным составом нефтепродуктов</li> <li>▪ С различной давностью загрязнения</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Однократно</li> <li>▪ В динамике</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Не указано</li> <li>▪ После появления всходов</li> <li>▪ На 5 или 7 сутки после посева семян</li> <li>▪ На 5, 10, 15 и 20-е сутки после появления всходов</li> </ul>	Трофимов, 2008; Бородулина, Полонский, 2011; Даурбекова и др., 2012; Сангаджиева, 2013; Кольцова, 2015; Арзамазова и др., 2016; Ковалева и др., 2019;
Масса проростков	Влияние нефти на растительность	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контроль)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> </ul>	Однократно	После появления всходов	Бородулина, Полонский, 2010, 2011
Энергия прорастания семян	Влияние нефти на растительность	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контроль)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> </ul>	В динамике	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Не указано</li> <li>▪ На 5 или 7 сутки после посева семян</li> <li>▪ На 5, 10, 15 и 20-е сутки после появления всходов</li> </ul>	Сангаджиева, 2013; Кольцова, 2015; Ковалева и др., 2019
Дружность прорастания					
Скорость прорастания					

Показатель	Характер исследования	В сравнении с чем	Количество измерений	Период	Ссылка на исследование
Выживаемость растений	Влияние нефти на растительность	С незагрязненным вариантом (контроль)		Не указано	Ковалева и др., 2019
Биомасса растений	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на растительность</li> <li>▪ Естественные процессы рекультивации</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контроль)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> <li>▪ С различной давностью загрязнения</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Однократно</li> <li>▪ Дважды</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Не указано</li> <li>▪ На 5 или 7 сутки после посева семян</li> <li>▪ На 14 и 42 дни после появления всходов</li> </ul>	Трофимов, 2008; Суслонов, 2012 Кольцова, 2014, 2015; Иванова и др., 2015; Ковалева и др., 2019
Высота растений	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Влияние нефти на растительность</li> <li>▪ Степень токсичности загрязненных почв</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контроль)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> <li>▪ С различным составом нефтепродуктов</li> <li>▪ С различной давностью загрязнения</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Однократно</li> <li>▪ В динамике</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Не указано</li> <li>▪ После появления всходов</li> <li>▪ По окончанию опыта</li> <li>▪ В течении периода вегетации</li> <li>▪ На 5, 10, 15 и 20-е сутки после появления всходов</li> <li>▪ На 4-7, 10, 14, 42 сутки после появления всходов</li> </ul>	Бородулина, Полонский, 2010; Даурбекова и др., 2012; Сангаджиева, 2013; Арзамазова и др., 2016; Ковалева и др., 2019 Кольцова, 2014, 2015
Длина листовых пластинок	Влияние нефти на растительность	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контроль)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> </ul>	Однократно	По окончанию опыта	Бородулина, Полонский, 2010; Сангаджиева, 2013
Площадь листовых пластинок					
Толщина листовых пластинок					
Длина корней					

Показатель	Характер исследования	В сравнении с чем	Количество измерений	Период	Ссылка на исследование
Количество побегов					
Количество зерен в колосе					
Длина колоса					
Качественная характеристика тест-культур					
Содержание воды в надземной части растений	Влияние нефти на растительность	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контроль)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> </ul>	Однократно	По окончанию опыта	Бородулина, Полонский, 2010; Иванова и др., 2015
Интенсивность транспирации растений					
Общая адсорбирующая поверхность корневой системы					
Активность 14C надземной фитомассы	Влияние нефти на растительность	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контроль)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> </ul>	Однократно	Не указано	Трофимов, 2008
Содержание аскорбиновой кислоты в растениях	Влияние нефти на растительность	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ С незагрязненным вариантом (контроль)</li> <li>▪ С различными дозами загрязнения</li> </ul>	В динамике	На 10 и 20 сутки, в фазу колошения	Киреева и др., 2009
Содержание рибофлавина в растениях					

<b>Показатель</b>	<b>Характер исследования</b>	<b>В сравнении с чем</b>	<b>Количество измерений</b>	<b>Период</b>	<b>Ссылка на исследование</b>
Активность ферментов в растении					
Содержание азота в растении	Ускоренные процессы рекультивации	С вариантом без рекультивации	Однократно	После уборки культур	Назарюк, 2020
Содержание фосфора в растении	Ускоренные процессы рекультивации	С вариантом без рекультивации	Однократно	После уборки культур	Назарюк, 2020
Содержание калия в растении	Ускоренные процессы рекультивации	С вариантом без рекультивации	Однократно	После уборки культур	Назарюк, 2020



## Приложение 2.

**Группировка торфяных почв по обеспеченности подвижным фосфором и обменным калием (объемная масса торфа 0,2-0,25 г/см<sup>3</sup>) по данным Белорусского НИИ почвоведения и агрохимии (Бельский Б.Б., Кулаковская Т.Н.)**

Уровень обеспеченности растений	Содержание в почве подвижного фосфора (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> мг/100 г почвы)	Содержание в почве обменного калия (K <sub>2</sub> O мг/100 г почвы)
Очень низкий	0-10	10-15
Низкий	10-20	15-25
Средний	20-40	25-50
Повышенный	40-60	50-80
Высокий	60-100	80-120
Очень высокий	>100	>120

### Приложение 3.

**Группировка почв по содержанию минерального азота (определяемых по методам ГОСТ 26488-85; ГОСТ 26489-85)**

Тип почвы	Уровень обеспеченности	Содержание в почве минерального азота (N-NH <sub>4</sub> + N-NO <sub>3</sub> , мг/100 г почвы)
Дерново-подзолистые, подзолистые почвы, глееземы и другие минеральные почвы таежной зоны	Средний	1,1 - 2,0
	Повышенный	2,1 - 4,0
Торфяные почвы	Средний	26 - 33
	Повышенный	34 - 40

#### Приложение 4.

**Группировка почв по содержанию подвижного фосфора, определяемого по методам Кирсанова, Чирикова, Мачигина (Минеев, 2001)**

№ группы	Содержание подвижного фосфора	По методу		
		Кирсанова	Чирикова	Мачигина
		P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/кг почвы		
1	Очень низкое	Менее 25	Менее 20	Менее 10
2	Низкое	26 - 50	21 - 50	11 - 15
3	Среднее	51 - 100	51 - 100	16 - 30
4	Повышенное	101 - 150	101 - 150	31 - 45
5	Высокое	151 - 250	151 - 200	46 - 60
6	Очень высокое	Более 250*	Более 200*	Более 60*

## Приложение 5.

**Группировка почв по содержанию обменного калия, определяемого по методам Кирсанова, Чирикова, Мачигина (Минеев, 2001)**

№ группы	Содержание обменного калия	По методу		
		Кирсанова	Чирикова	Мачигина
		K <sub>2</sub> O, мг/кг почвы		
1	Очень низкое	Менее 40	Менее 20	Менее 100
2	Низкое	41-80	21-40	101-200
3	Среднее	81-120	41-80	201-300
4	Повышенное	121-170	81-120	301-400
5	Высокое	171-250	121-180	401-600
6	Очень высокое	Более 250*	Более 180*	Более 600*

## Приложение 6.

### Надземная воздушно-сухая биомасса растений, г/сосуд (среднее $\pm$ стандартное отклонение)

Чернозем типичный

Вариант	2021 год (n = 3)	2021 год (n = 3)	2021 год (n = 3)	Среднее за три года
Контроль (КН)	6,5 $\pm$ 0,5	8,1 $\pm$ 0,6	7,7 $\pm$ 0,8	7,6 $\pm$ 0,4
КН + НаммРК	10,2 $\pm$ 0,7	9,0 $\pm$ 0,8	8,8 $\pm$ 0,5	9,3 $\pm$ 0,7
КН + НнитрРК	11,1 $\pm$ 0,4	12,9 $\pm$ 1,7	10,1 $\pm$ 0,4	11,0 $\pm$ 0,7
КН + НаммНнитрРК	9,0 $\pm$ 1,8	9,3 $\pm$ 0,8	8,7 $\pm$ 0,5	9,3 $\pm$ 0,7
Контроль + 5 г нефти	3,6 $\pm$ 0,4	4,1 $\pm$ 0,3	4,7 $\pm$ 0,4	4,1 $\pm$ 0,4
5 г нефти + НаммРК	4,5 $\pm$ 0,7	3,9 $\pm$ 0,5	6,6 $\pm$ 0,6	5,0 $\pm$ 0,3
5 г нефти + НнитрРК	7,9 $\pm$ 0,4	7,0 $\pm$ 0,4	6,6 $\pm$ 0,1	7,1 $\pm$ 0,2
5 г нефти + НаммНнитрРК	4,8 $\pm$ 0,2	5,4 $\pm$ 0,3	5,0 $\pm$ 0,3	5,0 $\pm$ 0,2
Контроль + 7 г нефти	3,0 $\pm$ 0,2	3,5 $\pm$ 0,5	2,7 $\pm$ 0,2	3,1 $\pm$ 0,4
7 г нефти + НаммРК	3,6 $\pm$ 0,2	4,4 $\pm$ 0,4	3,0 $\pm$ 0,3	3,7 $\pm$ 0,3
7 г нефти + НнитрРК	4,4 $\pm$ 0,3	4,8 $\pm$ 0,4	4,1 $\pm$ 0,4	4,4 $\pm$ 0,3
7 г нефти+ НаммНнитрРК	3,0 $\pm$ 0,7	4,6 $\pm$ 0,3	5,1 $\pm$ 0,2	4,2 $\pm$ 0,3