

**Министерство науки и высшего образования Российской Федерации**  
**Федеральное государственное автономное образовательное**  
**учреждение высшего образования**  
**«ЮЖНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

*На правах рукописи*



**РУСЕВА АННА СТЕПАНОВНА**

**ВЛИЯНИЕ РЕМЕДИАНТОВ НА ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ**  
**ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЬЮ И НЕФТЕПРОДУКТАМИ ЗОНАЛЬНЫХ**  
**ПОЧВ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ**

1.5.15. Экология (биологические науки)

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание учёной степени  
**кандидата биологических наук**

Научный руководитель:  
д.с.-х.н., профессор Колесников С. И.

Ростов-на-Дону – 2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	<b>4</b>
<b>ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>9</b>
1.1. Состав и свойства нефти и нефтепродуктов, происхождение нефти .....	9
1.2. Источники и масштабы загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами ..	13
1.3. Изменение почвенных свойств при воздействии нефти и ее производных	17
<b>1.4. Способы ремедиации почв .....</b>	<b>20</b>
<b>1.5. Биоремедиация загрязненных нефтью и нефтепродуктами почв .....</b>	<b>23</b>
<b>ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....</b>	<b>31</b>
2.1. Объекты исследования .....	31
2.2. Характеристика загрязнителей и ремедиантов .....	1
2.3. Методика модельных экспериментов .....	35
2.4. Изучение экологических и биологических свойств почв .....	42
2.5. Статистическая обработка полученных результатов .....	47
<b>ГЛАВА 3. ДИНАМИКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ЧЕРНОЗЕМА ОБЫКНОВЕННОГО ПРИ РАЗЛИЧНОМ УРОВНЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ НЕФТЬЮ И НЕФТЕПРОДУКТАМИ И ВНЕСЕНИИ РЕМЕДИАНТОВ</b>	<b>48</b>
3.1. Влияние ремедиантов на экологическое состояние чернозема обыкновенного при загрязнении нефтью, мазутом, бензином .....	48
3.2. Влияние ремедиантов на экологическое состояние нефтезагрязненного чернозема обыкновенного через 30, 90 и 180 суток эксперимента .....	60
3.3. Влияние ремедиантов на экологическое состояние чернозема обыкновенного при загрязнении нефтью в разных концентрациях.....	81
3.4. Влияние биочара на экологическое состояние чернозема обыкновенного при загрязнении дизельным топливом в разных концентрациях.....	91

## **ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ РЕМЕДИАНТОВ НА ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧВ ЮГА РОССИИ ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ НЕФТЬЮ**

4.1. Влияние ремедиантов на экологическое состояние нефтезагрязненной бурой лесной почвы ..... 96

4.2. Влияние ремедиантов на экологическое состояние нефтезагрязненной бурой полупустынной почвы ..... 103

## **ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ БИОЧАРА НА ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ЗОНАЛЬНЫХ ПОЧВ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ НЕФТЬЮ..... 111**

**ВЫВОДЫ..... 120**

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ ..... 122**

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ ..... 123**

## ВВЕДЕНИЕ

*Актуальность.* Интенсивное развитие процесса глобализации экономики и торговли в течение последних нескольких десятилетий способствовало увеличению потребления нефти и нефтепродуктов (Zhu et al., 2016; Li et al., 2020; Bao et al., 2022; Lv et al., 2023). Согласно данным Организации стран – экспортёров нефти, ежегодная потребность в нефти и ее производных увеличивается примерно на 8%, при этом добыча нефти растет на 5% в год (Васильева и др., 2013). Нефть и ее производные попадают в окружающую среду различными способами, включая утечки из устьев скважин, трубопроводов и подземных резервуаров для хранения, а также в результате неправильной утилизации нефтяных отходов и при буровых работах (Polyak et al., 2018).

Загрязнение нефтью и нефтепродуктами в наибольшей степени отражается на почвах. Большая часть Европейской части России пронизана сетью нефте- и нефтепродуктопроводов, которые представляют опасность возникновения аварийных разливов. Углеводороды нефти изменяют структуру и свойства почвы, нарушают ее биологические свойства, а также попадают в подземные и поверхностные воды, что в значительной степени угрожает экологической обстановке в целом. Для естественного восстановления почв требуется длительный период времени, поэтому целесообразным является поиск эффективных методов их ремедиации (Ren et al., 2020).

Наиболее часто используемыми методами восстановления загрязненных нефтью и нефтепродуктами почв являются биологические (биоремедиация). По сравнению с физическими и химическими методами ремедиации, биологические имеют ряд преимуществ, включая мягкое воздействие на окружающую среду и отсутствие ее вторичного загрязнения, возможность практически полной минерализации загрязнителя, а также относительно невысокую стоимость выполнения работ по восстановлению экологического состояния почв (Янкевич и др., 2015; Zhang et al., 2020).

**Цель работы** – изучение влияния ремедиантов на экологическое состояние загрязненных нефтью и нефтепродуктами зональных почв Европейской части России.

**Задачи исследования:**

1. Исследовать экологическое состояние чернозема обыкновенного, бурой лесной и бурой полупустынной почв при внесении ремедиантов (биочара, нитроаммофоски, «Гумат натрия», «Байкал ЭМ-1») и разных загрязняющих веществ (нефти, мазута, бензина и дизельного топлива).

2. Определить наиболее чувствительные показатели биологического состояния почв при загрязнении нефтью и нефтепродуктами для оценки эффективности ремедиации.

3. Провести сравнительную оценку эффективности применения ремедиантов для стимуляции биологических показателей и снижения содержания углеводов нефти в разных зональных почвах Европейской части России: черноземе обыкновенном, черноземе оподзоленном, бурой полупустынной, бурой лесной, дерново-подзолистой и темно-серой лесной почвах.

**Основные защищаемые положения:**

1. Исследованные ремедианты (биочар, «Байкал ЭМ-1», «Гумат натрия», нитроаммофоска) в большинстве случаев улучшают экологическое состояние почв, загрязненных нефтяными углеводородами (нефтью, мазутом, бензином, дизельным топливом): биологические показатели почв увеличиваются, а остаточное содержание нефти в почве снижается.

2. Для оценки эффективности ремедиации почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, рекомендуются следующие биологические показатели: длина корней и побегов редиса, всхожесть семян редиса, активность каталазы, дегидрогеназ, фосфатазы, ферриредуктаз, пероксидаз, уреазы, инвертазы, общая численность бактерий, численность амилитических, аммонифицирующих бактерий и актиномицетов.

3. Эффективность применения ремедиантов при загрязнении нефтяными углеводородами в значительной степени зависит от типа почвы. Среди зональных

почв Европейской части России при использовании биочара наибольшая стимуляция биологических показателей наблюдается в дерново-подзолистой почве, а наименьшая – в бурой полупустынной почве.

**Научная новизна и теоретическая значимость.** Впервые проведена оценка влияния ремедиантов разного механизма действия (разложение или связывание нефти и нефтепродуктов) и различной природы («Гумат натрия» – органо-минеральное удобрение, нитроаммофоска – минеральное удобрение, биочар – сорбент, «Байкал ЭМ-1» – микробиологическое удобрение) на экологическое состояние чернозема обыкновенного, чернозема оподзоленного, бурой лесной, бурой полупустынной, дерново-подзолистой и темно-серой лесной почв. Определены наиболее эффективные ремедианты и их дозы для стимуляции биологической активности при загрязнении почв нефтью, мазутом, бензином, дизельным топливом в разных концентрациях и в разных почвах. Исследована динамика восстановления экологического состояния загрязненных почв после ремедиации. Выявлены наиболее чувствительные биологические показатели почв для оценки эффективности ремедиантов.

**Практическая значимость.** Результаты могут быть использованы при выборе ремедианта для восстановления почв в зависимости от загрязняющего нефтяного углеводорода (нефть, мазут, бензин и дизельное топливо), степени загрязнения и от типа почвы, что позволит повысить эффективность ремедиации нефтезагрязненных почв, улучшить их экологическое состояние и восстановить плодородие. Полученные результаты используются в образовательной и научно-исследовательской деятельности в Южном федеральном университете.

**Личный вклад автора.** В диссертации представлены результаты исследований, проведенных в 2020–2024 гг. Название, цель, задачи, объекты и методы исследования определены автором совместно с научным руководителем. Лабораторные модельные эксперименты, а также аналитические исследования были проведены автором лично. Анализ и описание результатов исследования, написание выводов и защищаемых положений выполнено автором лично при участии научного руководителя.

**Степень достоверности результатов исследования.** Достоверность данных обеспечена большим объемом экспериментальных исследований, применением современных и классических методов в экологии и биологии почв, использованием методов статистической обработки полученных результатов. Проведено сравнение результатов исследования с результатами по данной тематике, полученными ранее.

**Апробация работы.** Результаты исследования были представлены на международных и всероссийских конференциях и форумах: «Устойчивое развитие территорий: теория и практика» (Сибай, 2021), «Биологическое разнообразие и биоресурсы степной зоны в условиях изменяющегося климата» (Ростов-на-Дону, 2022), «Эволюция и деградация почвенного покрова» (Ставрополь, 2022), «Степная Евразия – устойчивое развитие» (Ростов-на-Дону, 2022), «Развитие водных транспортных магистралей в условиях глобального изменения климата на территории Российской Федерации (Евразии)» (Ростов-на-Дону, 2022), «Биодиагностика и экологическая оценка окружающей среды: современные технологии, проблемы и решения» (Москва, 2023), «Наука Юга России: достижения и перспективы» (Ростов-на-Дону, 2023), «Актуальные проблемы экологии и природопользования» (Ростов-на-Дону, 2020, 2021, 2022, 2023), «Неделя науки. Секция экологии и природопользования» (Ростов-на-Дону, 2020, 2021, 2022, 2023), «Ломоносов» (Москва, 2020, 2021, 2022, 2023).

**Соответствие паспорту специальности.** Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 1.5.15. Экология в пункте 10 – «Антропогенное воздействие на популяции, сообщества и экосистемы. Биологические эффекты загрязнения среды токсичными веществами (экотоксикология). Разработка биологических методов и критериев оценки состояния среды, биоиндикация, биотестирование, биомониторинг. Разработка экологически обоснованных норм воздействия хозяйственной деятельности человека на живую природу».

**Публикации.** По теме диссертационного исследования опубликованы 43 научные работы, из которых 7 статей в журналах, индексируемых базами данных

международных индексов научного цитирования Scopus и Web of Science, 5 статей в журналах, входящих в Перечни рецензируемых научных изданий ЮФУ и ВАК. Доля участия автора в публикациях составляет 70%.

**Структура и объем работы.** Диссертация состоит из введения, 5 глав, выводов и списка литературы. Работа представлена на 147 страницах, содержит 57 рисунков и 42 таблицы. Список литературы включает 201 источник, в том числе 117 на иностранных языках.

**Конкурсная поддержка работы.** Исследование выполнено при финансовой поддержке Программы стратегического академического лидерства Южного федерального университета «Приоритет 2030» (СП-12-22-10, СП-12-23-01) и грантов Президента Российской Федерации (НШ-2511.2020.11, НШ-449.2022.5, МК-175.2022.5).

**Благодарности.** Автор выражает искреннюю благодарность и признательность своему научному руководителю, заведующему кафедрой экологии и природопользования ЮФУ, д.с.-х.н., профессору С.И. Колесникову за оказанную помощь и поддержку при написании диссертации, д.г.н., профессору К.Ш. Казееву за ценные советы по написанию работы, к.б.н., в.н.с. Т.В. Минниковой за консультации и помощь при выполнении исследования и всем сотрудникам кафедры экологии и природопользования ЮФУ.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Состав и свойства нефти и нефтепродуктов, происхождение нефти

Нефть представляет собой жидкое природное ископаемое, которое включает большое количество разных по строению высокомолекулярных углеводородов (Шмараев, Шорина, 2009). В природных условиях нефть различается по внешнему виду, фазовому состоянию, химическому составу, химическим и физическим свойствам. На физические свойства и состав нефти влияет соотношение ее компонентов. Кроме того, на все свойства большое воздействие оказывает удельный вес, который изменяется в пределах от 0,80 до 0,95 (Рысбаева и др., 2018).

Нефтяные углеводороды естественным образом залегают в отложениях под поверхностью земли в пористых или трещиноватых осадочных породах, существуют в виде газов (природный газ), полутвердых (битум), твердых веществ (воск или асфальтит) и жидкостей – в виде сырой нефти (Рысбаева и др., 2018; Ite, Ibok, 2019; Ossai et al., 2020).

В целом нефть содержит большое количество соединений разных классов. Их настолько много, что с течением времени в нефти обнаруживается все больше и больше соединений. Некоторые аналитики идентифицируют до 17500 соединений (Fingas, 2011). В состав нефти входят короткоцепочечные углеводороды, сложные смеси парафиновых, алициклических и ароматических углеводородов и меньшая доля неуглеродистых соединений, таких как нафтеновые кислоты, фенолы, тиолы, гетероциклический азот, соединения серы, а также металлопорфирины и асфальтены. Наибольшую долю, около 57 %, в составе нефти образуют алифатические углеводороды. На втором месте по содержанию находятся ароматические углеводороды – около 29 %. Асфальтены и другие соединения в общей сумме составляют 14 % (Иваненко, 2006; Привалова и др., 2017). В элементном составе содержание углерода в нефти обычно находится в диапазоне 83–87%, а содержание водорода колеблется от 10 до 14%. Углерод и водород являются основными горючими составляющими нефти, при этом, чем

тяжелее нефть, тем выше становится процентное содержание углерода и снижается доля водорода (Кунавина, Кочулева; 2018). Кроме того, в сырой нефти обнаружены различные небольшие количества азота, кислорода, серы и металлов (Ni, V и Cr). Количество воды в нефти варьирует от десятых долей до 60 % и более. При этом содержание воды в нефтепродуктах намного меньше, чем в нефти (Кунавина, Кочулева, 2018; Fingas, 2011).

Сырую нефть можно классифицировать на легкую (плотность 0,65–0,87 г/см<sup>3</sup>), среднюю (плотность 0,87–0,91 г/см<sup>3</sup>) и тяжелую (плотность 0,91–1,05 г/см<sup>3</sup>). Это важный показатель, который отражает степень воздействия нефти на окружающую среду (Химия нефти и газа, 2023).

Фракции нефти обладают разной токсичностью. При загрязнении тяжелыми фракциями почве наносится косвенный вред – происходит ухудшение либо полное прекращение аэрации почвы, что способствует снижению численности или даже вымиранию аэробной микрофлоры и, наоборот, увеличению количества анаэробных организмов. Наиболее опасным является загрязнение именно нефтью. Ее легкие фракции проникают вглубь почвы, при этом тяжелые фракции формируют на поверхности корку, тем самым препятствуя испарению легких. Это способствует гибели почвенных организмов и потере сельскохозяйственных функции почвы (Комаровский, Воднева, 2011).

Тяжелые нефти представляют собой природные соединения, содержащие углеводороды, которые обычно составляют менее 20% по весу нефти, а также вещества, похожие на нефть. Это остаток от перегонки сырой нефти, куда входит углерод 88%, водород 10%, сера 1%, вода 0,5%, зола 0,1%, а также может входить диспергированные частицы. Тяжелые нефти сложно поддаются биологическому разложению. Фракции асфальтенов и смол помимо углерода и водорода содержат серу, азот, кислород и являются полярными компонентами мазута. Преимущественно из-за полярности данных фракций они обладают низкой летучестью (Ahmed, Fakhruddin, 2018).

Плотность нефти обычно составляет от 0,7 до 0,99 г/см<sup>3</sup>. Важной характеристикой нефти и нефтепродуктов также является температура

воспламенения. Легковоспламеняющимися считают жидкости, температура воспламенения которых менее 60°C. Многие нефтепродукты и нефть являются легковоспламеняющимися, однако диапазон температур их воспламенения достаточно широкий (Fingas, 2011).

Нефть и нефтепродукты содержат большое количество токсичных веществ с разной степенью растворимости и устойчивости к биологическому разложению (Sambuu et al., 2018). В целом нефть и ее составляющие обладают низкой растворимостью в воде (менее 5%), при этом такие ароматические углеводороды, как бензол, этилбензол, ксилол и толуол обычно представляют собой наиболее водорастворимую фракцию нефти и нефтепродуктов (Химия нефти, 1984). Гидрофобная составляющая нефтепродуктов в течение длительного времени сохраняется в почвах, в водоносных горизонтах и зоне аэрации, со временем преобразуется микроорганизмами и представляет собой источник вторичного загрязнения компонентов окружающей среды (Sambuu et al., 2018).

На сегодняшний день о происхождении нефти нет единого мнения. Существует две основные концепции ее происхождения – органическая и неорганическая. Согласно первой, нефть и природный газ сформировались в осадочном слое земной коры в результате трансформации растительных и животных остатков организмов. Считается, что этот процесс имеет стадийный характер. Среди сторонников органической концепции можно назвать таких ученых, как Н.Д. Зелинский, И.М. Губкин, К. Энглер, Г. Гефер. Неорганическая концепция заключается в том, что нефть и газ сформировались в мантии Земли путем синтеза углерода и водорода в условиях высокого давления и температуры. Данной концепции придерживались Д.И. Менделеев, В.Б. Порфирьев, М. Бергло, Н.А. Кудрявцев, П.Н. Кропоткин. Следует отметить, что на данный момент органическая теория происхождения нефти лучше аргументирована, чем неорганическая (Захарова, 2003; Шигапов, 2016).

М.В. Ломоносов в XVIII веке одним из первых сформулировал научно обоснованную концепцию возникновения нефти и газа, согласно которой нефть имеет органическое происхождение из каменного угля. Наибольшую

аргументированность имеет теория немецкого ученого Г. Потонье о смешанной растительно-животной природе исходного субстрата для нефти. Идея минерального происхождения нефти была впервые предложена в 1805 г. А. Гумбольдтом (Захарова, 2003; Чукин и др., 2016). В рамках данной концепции наиболее последовательной оказалась предложенная Д.И. Менделеевым карбидная гипотеза, согласно которой нефть возникла в ходе взаимодействия карбидов металлов ядра Земли с парами воды. В 1950 г. профессором Н.А. Кудрявцевым была предложена еще одна гипотеза неорганического происхождения нефти – магматическая, заключающаяся в том, что в мантии Земли под действием высоких температур углерод и водород образуют углеводородные радикалы, которые со временем в ходе соединения друг с другом и водородом образуют более сложные нефтяные углеводороды. Кроме того, существует и космическая гипотеза происхождения нефти и газа, приверженцами которой являлись В.В. Соколов и В.Б. Порфирьев (Захарова, 2003).

Понятие «нефтепродукты» имеет разные определения. Под нефтепродуктами в техническом понимании подразумевают нефти, которые прошли определенную подготовку. Они включают все виды автомобильного и авиационного бензина, котельное и дизельное топливо, тракторные, реактивные, осветительные керосины, мазуты, парафин, растворители, смазочные масла, просадки, нефтяные битумы, нефтяной кокс, гудроны, нефтяные кислоты (Хаустов и др., 2006; Околелова и др., 2013). Согласно аналитическому определению по ГОСТ 17.1.4.-01.-80 (1983) под нефтепродуктами понимают неполярные и малополярные соединения, экстрагируемые петролейным эфиром или гексаном.

Одним из производных нефти выступает бензин. Бензин – это общий термин, обозначающий летучие, легковоспламеняющиеся нефтяные топлива, используемые преимущественно в двигателях внутреннего сгорания для легковых автомобилей и других типов транспортных средств. Около 50% от общего количества углеводородов в бензине составляют ароматические вещества. Изоалканы составляют порядка 35%. Алкены, алканы и циклоалканы находятся в

незначительных количествах. В целом бензин включает смесь летучих углеводородных соединений с диапазоном температур кипения 50–200°C (США) или 25–220°C (Европа) для автомобильного бензина. В составе бензина преимущественно входят углеводороды в диапазоне C<sub>4</sub>-C<sub>12</sub>. Бензин легко воспламеняется, образует взрывоопасные смеси с воздухом и быстро испаряется (Ahmed, Fakhruddin, 2018).

Дизельное топливо является средними дистиллятами сырой нефти, которые получают методом фракционной перегонки. Оно содержит около 64% алифатических углеводородов, 35% ароматических углеводородов и 1-2% олефиновых углеводородов. Углеродное число углеводородов в топливе – от 11 до 25, а диапазон температур перегонки – от 180 до 380°C (Ahmed, Fakhruddin, 2018).

Мазут представляет собой производное нефти, остающееся после удаления легких углеводородов (бензин и дистиллятное топливо) за счет перегонки. Для него характерна высокая вязкость, смолоподобная консистенция, большое количество серы в составе – до 4,5% от общей массы. Мазут отличается высоким содержанием асфальтенов, что затрудняет его горение (Jameel et al., 2017).

## **1.2. Источники и масштабы загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами**

Загрязнение представляет собой изменение физических, химических и биологических показателей воздуха, воды и почвы, оказывающее воздействие на жизнь человека, растений и животных, промышленный прогресс, условия жизни и культурные ценности (Toscalino, Norman, 2006). Относительно загрязнения воды или воздуха, загрязнение почвы может быть намного менее очевидным и трудно обнаруживаемым. В последние десятилетия усилилась обеспокоенность относительно загрязнения почвы из-за случаев, когда загрязнение почвы негативно влияло на население и окружающую среду. Загрязнители почв способствовали сокращению почвенного биоразнообразия и ухудшению состояния больших территорий сельскохозяйственных земель по всему миру. Известно, что порядка 25% почв в мире сильно деградированы, при этом 44%

почв умеренно деградированы (Khelfi, 2018). При загрязнении окружающей среды почва испытывает на себе большую по сравнению с другими средами нагрузку, являясь «универсальным поглотителем». Большая часть загрязняющих веществ в почве является результатом деятельности человека (Doran et al., 1996; Navugimana et al., 2017).

До середины XIX в. нефть добывали в малых объемах, преимущественно из неглубоких колодцев рядом с естественными выходами ее на поверхность (Захарова, 2003). В целом нефтяная промышленность берет свое начало в 1859 году, когда в штате Пенсильвания американским предпринимателем Э.Л. Дрейком была пробурена первая нефтяная скважина глубиной 21 м. А в 1864 году первая скважина была пробурена в России на Кубани, глубина ее составляла 70 м (Галкин, Кочнева, 2011).

Интенсивная промышленная деятельность в XX веке, особенно в развивающихся странах, привела к серьезному загрязнению окружающей среды, в результате чего появилось большое количество и разнообразие загрязненных участков, ставших угрозой для экосистем (Pal et al., 2010). Мировое потребление нефти в период с 2009 по 2019 гг. увеличилось на 0,83–3,19% в год (Looney, 2020; Dike et al., 2021; Ruseva et al., 2023b). Согласно данным Международного энергетического агентства, для удовлетворения мирового спроса в 2015 году требовалось 97 миллионов баррелей нефти в день, и, по прогнозам, до 2021 года должно было потребоваться 100 миллионов баррелей нефти в день (Dos Santos, Maranhão, 2018).

Нефть и нефтепродукты выступают наиболее опасными загрязнителями окружающей среды. Большое количество разливов возникает в процессе разведки, добычи, переработки, транспортировки, хранения и утилизации нефти и ее производных (Ahmed, Fakhruddin, 2018; Zhang et al., 2020). Изобретение двигателя внутреннего сгорания и его внедрение во все виды транспорта расширили области применения коммерчески освоенной нефти, за счет чего увеличив спрос на ее производство, транспортировку, хранение, а также на сырую нефть и ее производные (Chorom et al., 2010).

Только в Европе 45% загрязненных территорий содержат углеводороды нефти (Masy et al., 2016; Borowik, Wyszowska, 2018). В России, согласно разным источникам, на почву выливается от 2 до 10% добываемой нефти. При этом потерю порядка 2% нефти по нормативам считают допустимой. Учитывая, что в России на сегодняшний день добывается около 400 млн. т. нефти, ее ежегодные потери составляют не менее 8–40 млн. т. (Владимиров, 2014). Разливы нефти были и остаются значительным источником загрязнения окружающей среды (Trindade et al., 2005). Крупнейшей аварией является нефтяной разлив (миллионы галлонов нефти) во время войны в Персидском заливе (1991 год). В 2017 году произошла авария с утечкой нефти на трубопроводе «Keystone». Эта ситуация привела к разливу 210 000 галлонов нефти (Ahmad et al., 2020). При разливе танкера с нефтью Exxon Valdez в 1989 году у берегов Аляски в море попало 42 миллиона литров нефти, что создало угрозу обширной площади морской экосистемы и близлежащей территории суши. В апреле 2010 года в результате взрыва и затопления буровой установки Deepwater Horizon в Мексиканском заливе в окружающую среду попало порядка 90–143 миллионов литров нефти (Tran et al., 2021). Также известно, что с 1970 по 2014 год в результате инцидентов с танкерами было потеряно около 5,74 млн тонн нефти (Ahmed, Fakhruddin, 2018).

Загрязнение нефтепродуктами является актуальной проблемой и для регионов, которые не добывают и не перерабатывают их (Korneykova et al., 2020). Наличие различных видов транспортных средств привело к увеличению использования моторного масла. Учитывая тот факт, что моторные топлива и смазочные материалы, необходимые для эффективной работы транспорта, являются источником нефтепродуктов, можно с уверенностью утверждать, что почва каждого района содержит нефтепродукты (Ahmed, Fakhruddin, 2018). В настоящее время примерно 80% земель подвержены воздействию продуктов нефтяного происхождения (Marinescu et al., 2010).

Источники поступления нефтяных углеводородов в окружающую среду многочисленны, поскольку количество отдельных углеводородных компонентов достаточно велико (Ossai et al., 2020). Основным антропогенным источником

возможного загрязнения углеводородами являются нефтяные месторождения, включая скважины, нефтяные терминалы, установки подготовки нефти, газовые факелы, трубопроводы и нефтеперерабатывающие заводы. Загрязнение может быть результатом случайных разливов и попадания нефтепродуктов в почву (Булуктаев и др., 2023; Zhichkina et al., 2020).

Поведение попавших в почву нефтепродуктов будет разнообразным, так как данные соединения содержат в своем составе сложные смеси углеводородов, которые в значительной степени различаются давлениями паров и растворимостью в воде. Разница этих свойств способствует разному распределению углеводородных компонентов в почве, воде и воздухе. То, каким образом будут себя вести углеводороды при попадании на поверхность почвы, будет зависеть от биотических и абиотических факторов (Fine et al., 1997). При попадании углеводородов нефти в почву они могут просачиваться в глубокие слои, доходя даже до грунтовых вод. Накопление высокомолекулярных компонентов нефти, содержащих циклические и смолисто-асфальтеновые соединения, происходит в органогенных горизонтах. Данные соединения трудно поддаются разложению и способствуют нарушению водно-физических свойств почв. При этом легкие фракции являются самыми подвижными и могут попадать в грунтовые воды. Данные фракции испаряются и разлагаются в течение года (Baigamova, 2021).

Учитывая тенденцию все чаще прибегать к более экологичным источникам энергии, полностью устранить потребность в нефти на сегодняшний день невозможно. Нефть представляет собой наиболее ценный вид сырья и применяется в большинстве отраслей уже много лет. Сектор нефти и углеводородов в глобальном масштабе изменяется коренным образом, что приводит к росту промышленной активности в области переработки углеводородов (Das et al., 2018).

Проблема защиты почвы от загрязнения сложна и многомерна. Основным способом защиты почв от загрязнения нефтепродуктами является предотвращение их попадания в почву (Zhichkina et al., 2020).

### **1.3. Изменение почвенных свойств при воздействии нефти и ее производных**

Разливы приводят к катастрофическим последствиям для людей и для других биотических компонентов экосистемы (Ahmed, Fakhruddin, 2018). Нефтепродукты наносят огромный ущерб почвенным и водным экосистемам. Эти вещества представляют собой смеси органических соединений с низкой биодоступностью, часто описываемых как потенциально канцерогенные и мутагенные (Минникова и др., 2023а; Kaszyńska et al., 2015).

Почва, функционирующая не в полной мере, ставит под угрозу продуктивность, устойчивость и сопротивляемость агроэкосистем изменению климата и негативно воздействует на окружающую среду в средне- и долгосрочной перспективе (Sanchez-Hernandez et al., 2019).

Поведение нефти в почве зависит от разделения ее компонентов по вязкости и плотности, а также от степени взаимодействия с почвой. Почва, выступая как хроматографическая колонка, приводит к разделению нефтяных потоков по слоям и на минеральные воды, при этом удерживая в верхних горизонтах компоненты нефти и пропуская в нижние горизонты воды (Байчоров, 2020).

На данный момент не разработано надежных критериев для оценки степени загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами. Однако существует ряд признаков и показателей, которые используют для оценки нефтезагрязненных почв. Они включают:

- 1) нарушение физико-химических и морфологических показателей горизонтов почвы;
- 2) снижение почвенного плодородия и возникновение опасных токсикологических явлений;
- 3) нарушение взаимосвязи между отдельными компонентами органического вещества почвы;
- 4) изменение экологического равновесия в почвенной экосистеме;
- 5) возможность попадания нефти и нефтепродуктов в грунтовые воды (Ваграмова, 2021).

Нефтяные углеводороды являются высокотоксичными и канцерогенными. Разливы нефтяных углеводородов приносят существенный ущерб экосистемам. В большей степени страдает почва, так как из-за своей большой площади адсорбирующей поверхности она способна аккумулировать огромное количество загрязнителей. Попадая в почву, углеводороды нефти могут воздействовать на ее физические, химические свойства и нарушать биологическое равновесие (Сангаджиева и др., 2016; Tran et al., 2021). Нефть негативно влияет на большинство показателей почвы (Álvarez et al., 2016; Gordon et al., 2018; Ding et al., 2018; Vuzmakov et al., 2019). Загрязнение сырой нефтью в значительной степени повышает pH почвы (до 8,0 и выше) и приводит к снижению концентрации доступного фосфора в почве (Wang et al., 2013). Кроме того, нефтяное загрязнение негативно влияет на биоценоз почв, существенным образом изменяет свойства и структуру почвы, снижает ее плодородие и сельскохозяйственную ценность (Stepanova et al., 2022). Воздействие нефти на состояние почв наиболее отчетливо проявляется в изменении активности почвенных ферментов и микроорганизмов (Polyak et al., 2018).

Из-за попадания 2–5 % нефти в почву она становится непригодной для прорастания семян трав и древесных растений не менее, чем на пять лет (Исакова, 2019). Кроме угнетения растительности в первые дни загрязнения, происходит гибель большинства представителей почвенных беспозвоночных (Яковлев, Совенок, 2017). Такая ситуация для педобионтов и простейших обусловлена прямым токсическим действием легких фракций нефти и снижением доступа кислорода (Исакова, 2019).

При загрязнении почвенные частицы покрываются нефтяной пленкой, в результате чего цвет профиля почвы меняется на серый и темно-коричневый. Это способствует снижению светоотражающих свойств почвы, что влечет за собой менее эффективный ее прогрев (Орлов и др., 2002; Abu-Khasan, Makarov, 2021). Также в нефтезагрязненных почвах значительно повышается гидрофобность верхних слоев почвы, в результате они высыхают, при этом более чистые нижние слои страдают от избыточной влажности, что приводит к развитию анаэробных

процессов (Булуқтаев и др., 2015). Нефть и нефтепродукты приводят к изменению окислительно-восстановительных свойств почвы. Низкая аэрация и анаэробные условия в нижних слоях снижают окислительно-восстановительный потенциал почвы и могут привести к склеиванию частиц и даже переувлажнению на поверхности (Stepanova et al., 2022).

Микробные сообщества почв, включающие в качестве основных групп бактерии и грибы, образуют сложную, постоянно изменяющуюся систему. Загрязнение почв нефтяными углеводородами может нарушить структуру микробного сообщества и в значительной степени повлиять на метаболический цикл и разложение других органических веществ (Das, Chandran, 2011). Кроме того, данные загрязнители препятствуют прорастанию растений, вызывая анаэробные и гидрофобные условия в почве (Tran et al., 2021). Также углеводороды нефти способствуют ингибированию роста корней растений, замедлению усвоения ими питательных веществ, уменьшению количества фотосинтетических пигментов, деформации листьев и некрозу тканей (Chen, Zhong, 2019). Высадка сельскохозяйственных культур на загрязненных нефтью участках будет приводить к подавлению нормального роста и развития сельскохозяйственных культур, способствовать снижению устойчивости растений к полеганию и болезням, что в итоге приведет к ухудшению качества и урожайности культур (Булуқтаев, 2017; Lv et al., 2022). В то же время, при малых концентрациях нефть может оказывать стимулирующее действие на почвенные организмы, за счет того, что она выступает субстратом для некоторых микроорганизмов (Минкина и др., 2013).

Одним из важных показателей плодородия почв выступают целлюлозоразлагающие бактерии, отвечающие за трансформацию целлюлозы. Из бактерий они наиболее чувствительны к нефтяному загрязнению. Токсичное влияние на них оказывает как сама нефть, так и продукты ее распада. Жизнедеятельность целлюлозоразлагающих бактерий в значительной мере зависит от условий аэрации и наличия азота, которые нарушаются при нефтезагрязнении. При попадании нефтяных углеводородов в почву, в ней

снижается количество разлагающих целлюлозу бактерий, а восстановление их численности до исходного уровня происходит в течение многих лет. Также нарушается соотношение между отдельными таксономическими группами этих бактерий (Ваграмова, 2021).

Токсичность углеводов нефти для живых организмов заключается в том, они способствуют разрушению двойного липидного слоя плазматической мембраны, а также могут нарушать генетические процессы в клетке (Broniatowski et al., 2017; Hisamuddin et al., 2022). Углеводороды имеют свойство накапливаться на различных трофических уровнях в живых организмах и способность нарушать физиологические или биологические процессы у нескольких видов, вызывая мутации, рак, нарушение репродуктивной способности, кровотечения у подвергшихся воздействию организмов (Sales da Silva et al., 2020). Различные фракции нефти оказывают разное влияние на организмы. Легкие фракции являются наиболее токсичными. Летучие компоненты оказывают влияние на почвенные организмы сразу после загрязнения, однако это воздействие краткосрочное из-за быстрой испаряемости данных соединений. В результате процесса испарения из почвы естественным образом удаляется около 20–40% легких фракций нефти (Трофимов, Таранов, 1987; Рысбаева и др., 2018). Если оценивать влияние отдельных соединений, входящих в состав нефти, то полиароматическим углеводородам обычно уделяется особое внимание из-за их мутагенных и канцерогенных свойств (Ghosh et al., 2014; Patowary et al., 2018).

#### **1.4. Способы ремедиации почв**

Несмотря на то, что восстановление загрязненных нефтяными углеводородами почв может происходить естественным образом, этот процесс является очень длительным и малоэффективным, из-за того, что большинство загрязненных участков содержит относительно малое число разлагающих микроорганизмов. Естественная ремедиация также ограничена биодоступностью нефтяных углеводородов. Также эффективность биоремедиации может быть снижена в ситуации, когда почвы загрязнены другими стойкими соединениями,

например ПАУ (Hoang et al., 2021). Все эти особенности способствуют тому, что нефть может оставаться в загрязненных почвах десятилетиями, создавая серьезную проблему для почвенной экосистемы и даже для здоровья человека (Lomza et al., 2016; Ren et al., 2020; Ruseva et al., 2023b).

На скорость и эффективность ремедиации влияют множество физических, химических и биологических особенностей почв, при этом немаловажным фактором также является концентрация загрязнителей и их биодоступность (Polyak et al., 2018; Ite, Ibok, 2019).

Среди методов восстановления загрязненных нефтью и нефтепродуктами почв обычно выделяют физические, химические и биологические – биоремедиация (Chen, Zhong, 2019, Michael-Igolima et al.; 2020; Lv et al., 2022).

Среди физических методов чаще всего выделяют такие способы, как: экстракция паров почвы, флотация, обработка ультразвуком, электрокинетическая рекультивация, термодесорбция и адсорбция. Экстракция паров почвы заключается в переносе летучих органических соединений к поверхности почвы. Флотация основана на различии поверхностных свойств загрязнителя и почвы. Обработка ультразвуком способствует разложению загрязняющего вещества, а также образованию окислителей, повышающих эффективность устранения загрязнителя. При электрокинетической рекультивации образуется градиент потенциала напряжения, который направляет жидкую среду преимущественно к катоду и увлекает загрязнитель вместе со всем потоком (Sri Ranjan et al., 2006). Термодесорбция основана на изменении температур для увеличения давления паров загрязняющих веществ. При этом загрязняющие вещества улетучиваются из почвы (Rushton et al., 2007; Chen, Zhong, 2019).

К химическим способам удаления нефтяных углеводородов относят химическое окисление, плазменное окисление и фотокаталитическое разложение. При химическом окислении используют окислители, которые способствуют превращению загрязнителя в неопасные биоразлагаемые или менее токсичные соединения, которые более стабильны, менее подвижны или инертны. При плазменном окислении создается сильная окислительная среда для разложения

загрязняющих веществ. При этом плазма представляет собой электрически нейтральные агрегаты, состоящие из ионов, электронов, атомов, молекул и объединенных нейтральных частиц. Технология фото-каталитического разложения использует полупроводниковый оксид металла в качестве катализатора для разложения органических загрязнителей (Chen, Zhong, 2019).

В последнее время наиболее часто используемыми являются методы биологической очистки (биоремедиация). В целом при биоремедиации нефтезагрязненных почв наиболее широко используемыми организмами являются бактерии, которые обладают рядом преимуществ для разложения нефтепродуктов (Манучарова и др., 2020; Wolicka et al., 2009; Chen, Zhong, 2019).

На выбор способа ремедиации загрязненной почвы влияют размер конкретного разлива, особенности ландшафта и географической зоны и то, какие меры очистки в целом доступны (Stepanova et al., 2022). В некоторых случаях применяют комбинацию вышеперечисленных методов. В ситуациях, когда, например, промывка почвы нерентабельна, нефтезагрязненные почвы не очищают и используют в гражданском строительстве (при строительстве дорог и др.) (Zahermand et al., 2020). В настоящее время наиболее часто используемыми при ликвидации разливов нефтепродуктов на суше и в прибрежных районах являются физические или механические методы (Ossai et al., 2020). При этом многие исследователи отмечают, что химические и физические методы имеют ряд недостатков. Они имеют высокую стоимость, могут неполностью разлагать загрязнитель и вторично загрязнять компоненты окружающей среды (Ahmed, Fakhruddin, 2018).

Восстановление загрязненных территорий в прежние времена всегда было сосредоточено только на удалении загрязняющих веществ, а экологические, социальные и экономические соображения обычно оставались без внимания (Нои, Al-Tabbaa, 2014; Lee et al., 2020). В последнее время выбор способа ремедиации и в целом стратегий восстановления почв основывается не только на цели снизить общую концентрацию загрязнителя, но и минимизировать риск, связанный с воздействием загрязняющего вещества (Beesley et al., 2011). В целом уменьшение

количества загрязняющих веществ в почве не всегда приводит к снижению экотоксичности. Поэтому для оценки эффективности рекультивации загрязненных почв помимо измерения остаточного содержания загрязняющих веществ в почве необходимо оценивать степень нарушения функций почвы. Неполномерный учет возможного образования промежуточных токсичных соединений и изменения биодоступности загрязняющих компонентов может представлять экологическую опасность (Al-Mutairi et al., 2008; Rao et al., 2014; Lee et al., 2020).

### **1.5. Биоремедиация загрязненных нефтью и нефтепродуктами почв**

В целом биоремедиация представляет собой метод очистки от загрязнений за счет усиления процессов биodeградации, которые также происходят и в естественных условиях (Sivkov, Nikiforov, 2021). Для целей биоремедиации при разложении вредных соединений, присутствующих в окружающей среде, чаще всего используют потенциал живых организмов (Martinkosky et al., 2017; Ahmad et al., 2020).

Многочисленные исследования показали, что биоремедиация является практичным и экологически чистым методом рекультивации загрязненных нефтью почв (Кирий, 2013; Ren et al., 2020; Papageorgiou et al., 2021; Lv et al., 2022; Minnikova et al., 2022; Vasilyeva et al., 2022; Liu et al., 2023; Ruseva et al., 2023b). Она получила широкое применение благодаря ряду преимуществ: высокой эффективности, простоты в эксплуатации, низкой стоимости и отсутствию вторичного загрязнения (Zhang et al., 2020).

Первоначально в биоремедиации использовали микроорганизмы для разложения органических загрязнителей. Микроорганизмы применялись римлянами и другими народами с 600 года до н. э. для очистки сточных вод. Первое коммерческое использование системы биоремедиации было отмечено в 1972 году для ликвидации разлива нефти по нефтепроводу Sun в Амблере, штат Пенсильвания. С 1972 года биоремедиация стала широко используемым способом очистки от различных загрязнений (Pal et al., 2010).

В основе биоремедиации почв лежит процесс биodeградации загрязняющего вещества. Биodeградация представляет собой биологическое преобразование или трансформацию органических загрязнителей грибами, бактериями или другими живыми организмами в более простые соединения, которые обычно содержат меньше свободной энергии (Surampalli et al., 2004; Ite, Iboк, 2019). В результате данного процесса происходит либо частичная, либо полная минерализация органических загрязнителей. Биodeградация это один из самых важных природных механизмов, за счет которого органические загрязнители могут быть минерализованы или преобразованы в нетоксичные соединения аборигенными почвенными бактериями. Знание механизмов преобразования органического загрязнителя в почве помогает определить стойкость загрязняющих веществ в окружающей среде и разработать стратегии снижения возможных рисков (Ite, Iboк, 2019).

Углеводороды имеют разную восприимчивость к разложению. Такие соединения, как высокомолекулярные полициклические ароматические углеводороды могут вообще не поддаваться разложению (Ahmed, Fakhruddin, 2018). Алканы поддаются разложению широкому спектру микроорганизмов, включая бактерии, плесневые грибы и дрожжи. Неспецифичность микроорганизмов, окисляющих алканы, делает возможным самоочищение почвенных и водных биоценозов (Stepanova et al., 2022).

На сегодняшний день существует целый комплекс методов биоремедиации, также были разработаны инновационные решения для ликвидации разливов нефти (Michael-Igolima et al., 2020).

В зависимости от места обработки почвы или другого загрязненного материала, биоремедиацию можно разделить на методы *in-situ* (на месте загрязнения) и *ex-situ* (за пределами территории). Методы биоремедиации *ex-situ*, как-правило, более дорогостоящие из-за затрат на выемку грунта и транспортировку, однако, их возможно использовать в случае сильного загрязнения при контролируемых условиях. Однако, даже при условии отсутствия затрат на земельные работы, иногда стоимость размещения оборудования на

месте, вместе с невозможностью проводить контроль процесса под поверхностью загрязненной территории, делают методы биоремедиации *in situ* неосуществимыми. Ремедиация *ex-situ* позволяет лучше контролировать окружающие условия, что способствует повышению скорости биodeградации относительно методов *in-situ*. Вместе с этим, за счет гомогенизации загрязненного грунта ремедиация осуществляется равномернее и занимает меньше времени. В то же время методы *ex-situ* в целом являются более дорогостоящими, а выемка грунта способствует увеличению подвижности загрязняющих веществ и их влиянию на почвенную среду. Основным показателем для определения того, какой метод биоремедиации возможно использовать, является тип загрязняющего вещества (Azubuike, 2016; Sales da Silva et al., 2020).

Большое количество микроорганизмов, прокариоты и эукариоты обладают способностью разлагать углеводороды в почве, за счет возможности использовать углеводороды нефти как источники питания и энергии (Коронелли 1996; Логинов и др., 2002; Минкина и др., 2013). Микроорганизмами, которые используются для удаления нефтяных загрязнителей, могут быть бактерии, грибки или дрожжи (Chen, Zhong, 2019). Наиболее изученными микроорганизмами являются бактерии, их многочисленные штаммы (Michael-Igolima et al., 2020). Согласно ряду проведенных исследований, в загрязненных нефтью объектах окружающей среды обнаружены бактерии таких родов, как *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Chrysporium*, *Rhodococcus*, *Penicillium*, *Acinetobacter* и *Streptomyces*, которые высокоэффективны при разложении нефтяных углеводов (Манучарова и др., 2021; Khan et al. 2013; Varjani 2017). В загрязненных нефтью почвах образуется определенный консорциум микроорганизмов, где преобладают такие представители, как *Actinobacteria*, *Thaumarchaeota* и *Crenarchaeota* (Степанов и др., 2022). Известно, что роды *Mycobacterium*, *Gordonia*, *Rhodococcus* широко применяются при рекультивации загрязненных нефтяными углеводородами почв (Bourguignon et al., 2016; Baoune et al., 2018). На сегодняшний день выявлено более 100 родов бактерий, дрожжей и мицелиальных грибов, способных разлагать углеводороды нефти (Stepanova et al., 2022).

Другая стратегия биоремедиации это биоаугментация. Она заключается во внесении экзогенных микроорганизмов в место загрязнения с целью разложения загрязняющих веществ (Ruffini Castiglione et al., 2016). При этом биостимуляция заключается в действиях по активации естественной микробиоты загрязненной почвы. Использование обоих методов в сочетании может стимулировать жизнедеятельность бактерий и способствовать улучшению свойств почвы (Saeed et al., 2021). Численность микроорганизмов, которые принимают участие в деградации загрязнителя, увеличивается до тех пор, пока он не исчезнет. После разложения загрязняющего вещества популяции микроорганизмов естественным образом сокращаются (Ahmed, Fakhrudin, 2018).

Микроорганизмы могут представлять один штамм или консорциум микробных штаммов с различной способностью к разложению. Считают, что биоаугментация наиболее эффективна для разложения легких фракций нефтяных углеводородов ( $C_{12}$ - $C_{23}$ ) (Bento et al., 2005; Chen, Zhong, 2019). Применение комплекса бактериальных культур более эффективно для разложения загрязнителей, чем использование чистой бактериальной культуры. Кроме того известно, что при удалении органических загрязнителей повторное внесение в почвы аборигенных микроорганизмов повышает эффективность биоремедиации (Patel et al., 2018; Kong et al., 2018; Feng et al., 2021). Возможно создать консорциум, состоящий из нефтеразлагающих и азотфиксирующих бактерий, в которых микроорганизмы синергетически дополняют друг друга, обеспечивая углеродом азотфиксирующие бактерии, а азотом бактерий-нефтедеструкторов. Данный консорциум может стать лучшим средством для ликвидации нефтяных разливов (Piehler et al., 1999; Onwurah, 2004; Chaudhary et al., 2019).

Успешность ремедиации в первую очередь зависит от биоразлагающих микроорганизмов. На эти микроорганизмы могут оказывать влияние другие микроорганизмы и дополнительные источники питания. Поскольку биогенные элементы могут стимулировать метаболизм микроорганизмов, разлагающих нефть, а микробные сообщества и виды деятельности могут различаться, недостаток данных элементов является одним из факторов, ограничивающих

биоремедиацию (Wu et al., 2016). Для стимуляции активности микроорганизмов при биоремедиации загрязненных участков обычно используют такие биогенные элементы, как кислород, углерод, фосфор и азот. Основное преимущество биостимуляции заключается в том, что разложение загрязняющих веществ осуществляют аборигенные микроорганизмы (Michael-Igolima et al., 2020). Недоступность биогенных элементов выступает одним из главных ограничивающих факторов, препятствующих деградации загрязняющих веществ в естественной среде обитания (Chandra et al., 2013). Углерод, азот и фосфор являются необходимыми для поддержания оптимальной метаболической активности бактерий. На территориях, подвергшихся нефтезагрязнению, содержание углерода увеличивается, при этом количество азота и фосфора резко снижается. Среди неорганических элементов потребность в фосфоре составляет одну шестую от потребности в азоте, это свидетельствует о том, что азот является преобладающим неорганическим соединением при биологическом разложении углеводородных загрязнителей, и его необходимо вносить на загрязненные участки (Chaudhary et al., 2019). Согласно данным исследователей, концентрация нефтяных углеводородов в почве снижается при добавлении таких веществ, как мочевина и удобрения (Минникова и др., 2019b; Solomon et al., 2018; Remelli et al., 2020).

Ключевой абиотический фактор, влияющий на жизнедеятельность микроорганизмов и на их способность разлагать нефть является температура. Оптимальным для деструкции микроорганизмами нефти в почве является диапазон 30-40°C. Также важным фактором выступает доступность кислорода. Как правило, углеводороды разлагаются в аэробных условиях, начальной стадией данного процесса является их ферментативное окисление оксигеназами, но недавно было обнаружено, что разложение происходит также и в анаэробных условиях. В данном случае акцепторами электронов могут быть ионы железа или нитрат-ионы (Widdel, Rabus, 2001; Rodgers, Bunce, 2001; Chaillan et al., 2004; Stepanova et al., 2022).

Фиторемедиация и микробиологическая ремедиация являются наиболее часто используемыми стратегиями биоремедиации, эффективными при обработке загрязненных нефтяными углеводородами почв (Tang et al., 2010; Ite, Ibok, 2019). Фиторемедиация заключается в прямом использовании зеленых растений для рекультивации *in situ*. При подборе растений для ремедиации необходимо учитывать такие факторы, как особенности их корневой системы, а также выживаемость и способность приспосабливаться к преобладающим условиям окружающей среды (Chen, Zhong, 2019).

Ризодеградация представляет собой процесс, в результате которого почвенные микроорганизмы и корни растений расщепляют загрязняющие вещества в ризосфере. Разнообразие и численность микроорганизмов в ризосфере отличается от таковой во внеризосферной почвенной среде (Семенов и др., 2019). Ризофилтрация – механизм фиторемедиации, при котором загрязняющие вещества осаждаются или поглощаются корнями. Выделяют три основных процесса, посредством которых загрязняющие вещества поступают в ткани растений: фитодеградация, фитоаккумуляция и фитоволатилизация. Корневые выделения могут быть использованы обитающими в почве микроорганизмами, которые способствуют росту и развитию растений, чтобы свести к минимуму неблагоприятное воздействие углеводородов на почвенный микробиом (Kaczyńska et al., 2015). При нефтезагрязнении возможно использовать все механизмы фиторемедиации, однако основными из них являются фитоволатилизация, фито- и ризодеградация. Ризодеградация выступает самым распространенным способом очистки почвы от нефтепродуктов. Считается, что микроорганизмы играют основную роль в данном процессе, а растения стимулируют рост микроорганизмов и улучшают состояние почвы (Stepanova et al., 2022).

При ризоремедиации, включающей комбинацию стратегий биостимуляции и фиторемедиации, корневые экссудаты повышают выживаемость и активность микробных сообществ, разлагающих углеводороды нефти, и/или других связанных с ними ризосферных бактерий, что в дальнейшем будет способствовать

разложению органических загрязнителей в почве (Ite, Ibok, 2019). Корневые экссудаты могут включать в себя органические кислоты, аминокислоты, кислород и углеводы, способствующие развитию ризосферных организмов и некоторых позвоночных (Chen, Zhong, 2019).

Зеленые водоросли родов *Chlorella* и *Scenedesmus* наиболее важны для удаления углеводов нефти. Они хорошо разлагают сырую нефть и полициклические ароматические соединения, такие как нафталин, фенантрен и пирен. По данным исследований, высокоэффективным также является сочетание микроводорослей и бактерий. Водоросли снабжают кислородом бактерий и тем самым стимулируют окисление углеводов. Кроме того, экссудаты водорослей могут способствовать росту бактерий и повышению биодоступности углеводов (Lei et al., 2007; Kalhor et al., 2017; Dell'Anno et al., 2021; Stepanova et al., 2022).

Помимо бактерий и растений, грибы и дождевые черви также обладают способностью разлагать загрязняющие вещества (Adedokun, Ataga, 2014). Согласно исследованиям, использование грибов способствует лучшему разложению нефти, чем применение традиционных методов биоремедиации (Batelle, 2000). Нитевидные грибы являются хорошими потенциальными агентами разложения загрязнителя, разлагая его посредством выделения внеклеточных ферментов. Помимо этого, грибы способны расти в стрессовых условиях окружающей среды, например: в среде с низкими значениями pH, бедной питательными веществами и с низким увлажнением. Среди нитчатых грибов *Trichoderma* и *Mortierella spp.* являются наиболее распространенными в почве (Thenmozhi, 2013).

Возможность использования дождевых червей в целях биоремедиации была случайно обнаружена в результате взрыва на химическом заводе в 1976 году в Севезо в Италии, когда большая территория была загрязнена высокотоксичными соединениями, такими как 2, 3, 7, 8-тетрахлордibenзо-п-диоксин. Некоторые почвенные организмы погибли, за исключением отдельных видов дождевых червей, которые поглощали загрязненные почвы и аккумулировали диоксины в

своих тканях (Michael-Igolima et al., 2020). Экспериментальные работы с дождевыми червями (*Eisenia fetida*) показали, что они также могут способствовать деградации нефтяных углеводов в почве (Schaefer, 2001). Помимо механизма аккумуляции в случае нефтезагрязнения благодаря биотурбации дождевые черви способствуют повышению доступности углеводов для микробиологического разложения. Кроме того, жизнедеятельность червей в нефтезагрязненной почве может приводить к косвенному изменению ее физических и химических свойств, таких как усиление эффекта вентиляции, в результате почва может поддерживать хорошую влагоудерживающую способность и проницаемость (Ossai et al., 2020; Lv et al., 2022).

## ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Объекты исследования

В работе были исследованы зональные почвы Европейской части России: чернозем обыкновенный карбонатный, бурая лесная слабонасыщенная, бурая полупустынная супесчаная, чернозем оподзоленный, темно-серая лесная и дерново-подзолистая (рис.1). Почву отбирали из верхнего слоя (0–10 см). Изучаемые почвы отличаются между собой гранулометрическим составом, содержанием гумуса, рН и по ряду биологических свойств (табл.1).

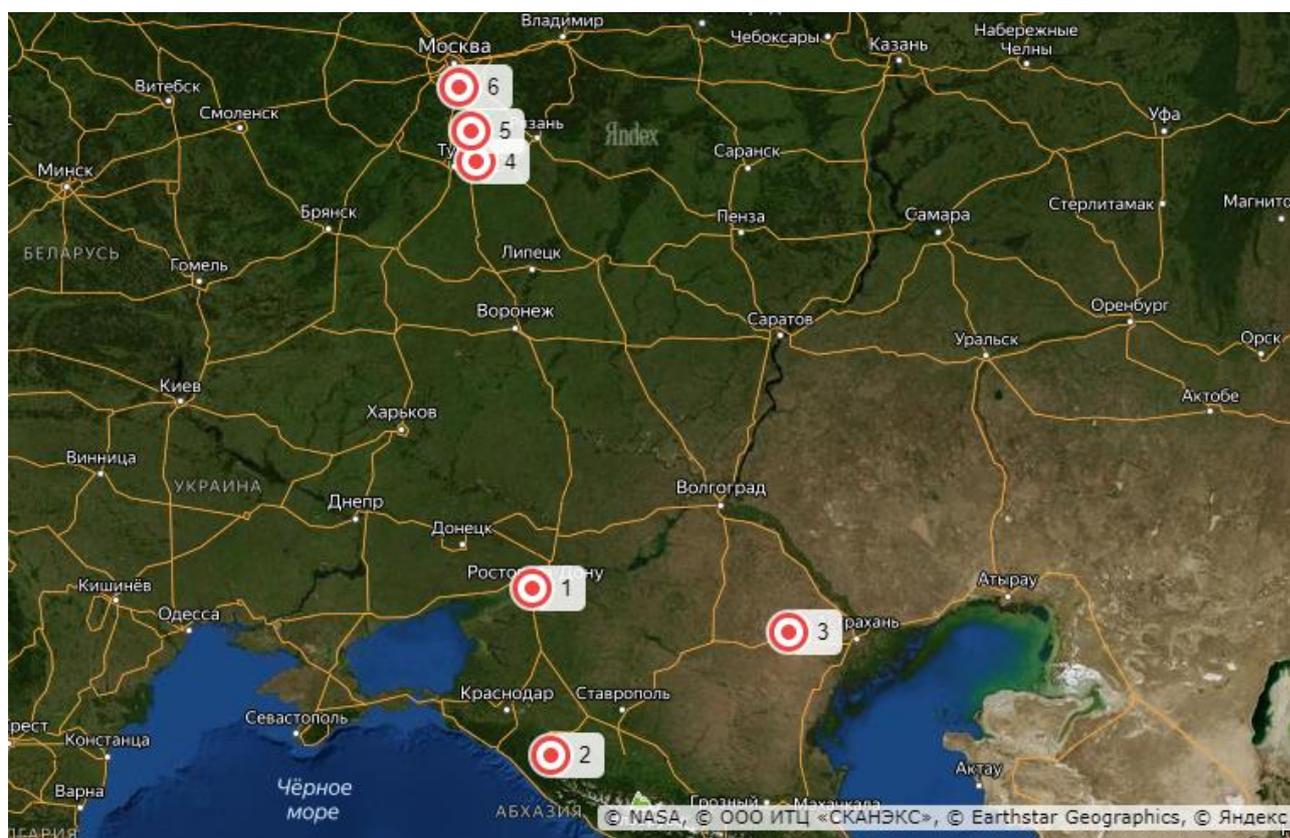


Рисунок 1 – Места отбора почв Европейской части России: 1 – чернозема обыкновенного карбонатного; 2 – бурой лесной почвы; 3 – бурой полупустынной супесчаной почвы; 4 – чернозема оподзоленного; 5 – темно-серой лесной почвы; 6 – дерново-подзолистой почвы

## Характеристика изучаемых почв Европейской части России

№	Почва	Название по World Reference Base for Soil Resources (WRB, 2014)	Экосистема	Место отбора	Координаты	pH	Содержание гумуса, %	Гранулометрический состав	Численность бактерий, млрд/г	Активность каталазы, мл O <sub>2</sub> /г/мин	Активность дегидрогеназ, мг ТФФ/г/24 ч
1.	Чернозем обыкновенный	Udic Chernozems Calcic	Пашня	Ростов-на-Дону, Ботанический сад Южного федерального университета	47°14'17.54"С 39°38'33.22"В	7,6	3,6	Тяжелосуглинистый	2,1	8,6	30,0
2.	Бурая лесная слабонасыщенная	Udic Cambisols Eutric	Буково-грабовый лес	Республика Адыгея, Майкопский район, п. Никель	44°10'39.76"С 40°9'27.47"В	5,3	4,8	Тяжелосуглинистый	2,2	6,4	28,0
3.	Бурая полупустынная супесчаная	Endosalic Calcisols Yermic	Пастбище	Республика Калмыкия, Наримановский район, п. Дрофиный	46°17'48.65"С 46°41'40.06"В	6,7	2,0	Легкосуглинистый	1,0	2,1	18,9
4.	Чернозем оподзоленный	Luvic Phaeozems Albic	Пашня	Тульская область, Венёвский район, д. Ульяновка	54°23'54.78"С 38°08'60"В	6,5	4,7	Тяжелосуглинистый	2,3	2,0	36,9
5.	Темно-серая лесная	Greyic Phaeozems Albic	Пашня	Московская область, городской округ Кашира, д. Злобино	54°44'1.19"С 38°5'41.17"В	5,7	4,4	Тяжелосуглинистый	1,5	3,7	28,6
6.	Дерново-подзолистая	Gleyic Albeluvisols	Смешанный лес	Московская область, городской округ Домодедово, поселок санатория «Подмосковье»	55°21'42.48"С 37°46'32.05"В	4,9	7,1	Тяжелосуглинистый	1,7	3,5	17,9

## 2.2. Характеристика загрязнителей и ремедиантов

Исследование было проведено в лабораторных условиях в трехкратной биологической повторности с использованием в качестве загрязнителей нефти, мазута, бензина и дизельного топлива, а в качестве ремедиантов – веществ различной природы: биочара, нитроаммофоски, «Гумат натрия» и «Байкал ЭМ-1».

Для моделирования загрязнения использовали нефть, предоставленную Новошахтинским НПЗ (г. Новошахтинск). Ее относят к легким нефтям – плотность  $0,818 \text{ г/м}^3$ , с массовой долей серы –  $0,43\%$ , массовой долей механических примесей –  $0,0028\%$ , массовой долей воды –  $0,03\%$ , при концентрации хлористых солей –  $40,1 \text{ мг/дм}^3$ . В опыте также был использован мазут компании «Неклиновскнефтепродукт» (с. Покровское). Плотность его составляет  $923,4 \text{ кг/м}^3$ , массовая доля серы  $1,71\%$ , массовая доля механических примесей  $0,035\%$ , массовая доля воды  $0,09\%$ , а условная вязкость  $3,8 \text{ }^\circ\text{ВУ}$ . Используемый бензин марки АИ-95 («ЛУКОЙЛ-Волгограднефтепереработка») имеет следующие характеристики: плотность при  $20^\circ\text{C}$  –  $739,1 \text{ кг/м}^3$ , массовая доля серы менее  $3\%$ , массовая доля кислорода –  $0,15\%$ . Дизельное топливо компании «Саратовский НПЗ» (г. Саратов) имеет плотность при  $15^\circ\text{C}$  –  $828,8 \text{ кг/м}^3$ , массовая доля серы в нем составляет  $8 \text{ мг/кг}$ , массовая доля воды –  $61 \text{ мг/кг}$ .

Нитроаммофоска является минеральным удобрением, которое содержит азот, калий и фосфор в равных долях. В почве нитроаммофоска сразу растворяется и диссоциирует преимущественно на ионы аммония ( $\text{NH}_4^+$ ), нитрат-ион ( $\text{NO}_3^-$ ) и ион ортофосфорной кислоты  $\text{PO}_4^-$ . Нитрат-ион поглощается растениями и микроорганизмами. Ионы аммония менее мобильны, поэтому они связываются с почвой, переходя в обменно-поглощенное состояние. В почвах, загрязненных нефтью и ее производными нитроаммофоску возможно применять с целью выравнивания соотношения углерод – азот для стимуляции аборигенных микроорганизмов (Кизинёк и др., 2013; Тарчигина и др., 2015; Минникова и др.,

2019а; Федотова и др., 2022). При биологической очистке и биоремедиации в качестве минеральных компонентов вносят минеральные удобрения (азотные, фосфорные и др.). При этом оптимальное соотношение C:N в почве составляет 9–200:1. При этом в микробной биомассе соотношение составляет от 3 до 24:1 (Трошкова и др., 2011; Семенов, 2020). В нашем исследовании соединение вносили из расчета соблюдения соотношения C:N как 5:1.

«Гумат натрия» представляет собой удобрение, в состав которого входит гумат натрия, железо, медь, марганец, магний, молибден, цинк и сера. Его производят из бурого угля и торфа, отходов производства спирта и бумаги. Применение гуминовых препаратов способствует улучшению биологических показателей почв, физических и протекторных свойств, механической структуры почвы (Титова, 2006; Поздняков и др., 2020). В данном исследовании «Гумат натрия» был внесен для стимуляции аборигенных почвенных микроорганизмов-деструкторов нефти и ее производных (Степанов и др., 2015; Jiang et al., 2022).

Биочар – богатое углеродом твердое вещество, уголь растительного происхождения, который производят путем термической трансформации органических веществ в среде с ограниченным доступом кислорода (Joseph et al., 2021). В нашем исследовании использовали биочар марки А (ГОСТ 7657–84), произведенный из древесины березы *Betula alba* с содержанием углерода не менее 85%. Биочар широко применяется для удаления и обезвреживания органических соединений, тяжелых металлов и неорганических загрязнителей (NH<sub>4</sub>, PO<sub>4</sub> и NO<sub>3</sub>) в сточных водах, а также в качестве почвенной добавки для иммобилизации загрязняющих веществ (Ye et al., 2017; Yin et al., 2017; Wang et al., 2018; Wang, Wang, 2019). Биочар выступает в качестве потенциального сорбента для удаления нефтяных углеводородов, влияя на количество клеток и активность почвенных микроорганизмов, а также на транспорт и биodeградацию загрязняющих веществ (Минникова и др., 2022b; Русева и др., 2022b; Meynet et al., 2014). Биочар благоприятно воздействует на почву, уменьшая выброс CO<sub>2</sub>, улучшая пористость

почвы и рН. Данные особенности биочара способствуют стимуляции почвенных микроорганизмов (Saeed et al., 2021). Ранее в исследованиях сотрудников ЮФУ была доказана эффективность использования биочаров из разного сырья при ремедиации загрязненных тяжелыми металлами и органическими загрязнителями почв (Бурачевская и др., 2020; Минкина и др., 2022; Бурачевская и др., 2023; Barakhov et al., 2023).

«Байкал ЭМ-1» представляет собой микробиологическое удобрение, включающее комплекс микроорганизмов. Биопрепарат предназначен для повышения плодородия почвы и почвенных смесей. В его состав входят: молочнокислые, фотосинтезирующие, азотфиксирующие бактерии, актиномицеты, сахаромицеты и культуральная жидкость (вода, меласса, соли гуминовых кислот, минеральные соли). В ходе ряда исследований доказана эффективность данного препарата при ремедиации загрязненных нефтью и нефтепродуктами почв. «Байкал ЭМ-1» приводил к восстановлению экологических функций и плодородия нефтезагрязненных почв (Безуглова, 2008; Чачина, Болтунова, 2015; Янгубаева, Никитина, 2016; Чачина, Верба, 2018; Русева и др., 2022а). В частности, В. К. Янгубаевой и В. С. Никитиной было показано, что среди содержащихся в «Байкал ЭМ-1» микроорганизмов присутствуют бактерии из родов *Pseudomonas* и *Mycococcus*, которые в качестве источника углерода могут использовать нефтепродукты (Янгубаева, Никитина, 2016).

### **2.3. Методика модельных экспериментов**

В работе исследовали влияние ремедиантов различной природы и их доз на экологическое состояние чернозема обыкновенного карбонатного, бурой лесной, бурой полупустынной почвы, чернозема оподзоленного, дерново-подзолистой и темно-серой лесной почв при загрязнении нефтью, бензином, мазутом и дизельным топливом. В разных модельных опытах чернозем загрязняли нефтью, мазутом, бензином, дизельным топливом, остальные почвы только нефтью в

концентрации 5% от массы почвы. Для нефти, как наиболее распространенного загрязнителя, на черноземе обыкновенном были исследованы показатели в динамике за 30, 90 и 180 суток, для мазута, бензина и дизельного топлива – только за 30 суток.

После отбора почву просушивали, выбирали из нее растительные остатки, а затем просеивали через сито с диаметром ячеек 3,2 мм. После этого образцы почвы в количестве 200 г помещали в вегетационные сосуды, увлажняли, загрязняли нефтью, бензином, мазутом либо дизельным топливом и вносили ремедианты. В связи с отсутствием предельно допустимых концентраций (ПДК) нефти и нефтепродуктов в почвах для выражения концентрации загрязнителей использовали их процентное содержание. Согласно литературным данным, при разливах нефти наиболее часто наблюдается загрязнение до 10% от почвенной массы (Трофимов и др., 2000; Пиковский и др., 2003; Колесников и др., 2013).

В качестве ремедиантов использовали: биочар, нитроаммофоску, «Гумат натрия» и «Байкал ЭМ-1». Биочар и нитроаммофоска представлены в сухом виде, «Гумат натрия» и «Байкал ЭМ-1» в виде растворов. Каждый из них вносили в трех дозах: в дозе, рекомендуемой производителем либо по литературным данным (1 Д), а также в 2 раза меньшей (0,5 Д) и в 2 раза большей, чем рекомендуемая (2 Д). В качестве рекомендуемой вносили: 10% биочара, 0,4% нитроаммофоски, 0,01% «Гумат натрия» и 0,2% «Байкал ЭМ-1» (Русева и др., 2022b). Все ремедианты представлены в расчете на сухую массу вещества относительно массы почв. Нормы внесения каждого ремедианта отображены в таблице 2.

## Нормы внесения ремедиантов в почву

Ремедиант	Доза	Количество вещества на 200 г почвы
Биочар	0,5 Д	10 г
	1 Д	20 г
	2 Д	40 г
Нитроаммофоска	0,5 Д	0,375 г
	1 Д	0,750 г
	2 Д	1,50 г
«Гумат натрия»	0,5 Д	0,5%-й раствор (80 мл)
	1 Д	1%-й раствор (80 мл)
	2 Д	2%-й раствор (80 мл)
«Байкал ЭМ-1»	0,5 Д	0,25%-й раствор (80 мл)
	1 Д	0,5%-й раствор (80 мл)
	2 Д	1%-й раствор (80 мл)

Изучаемые ремедианты отличаются природой, механизмом воздействия и способом внесения. Сухие вещества (нитроаммофоска и биочар) были внесены перемешиванием с увлажненной почвой с добавлением нефти или нефтепродукта. «Байкал ЭМ-1» и «Гумат натрия» вносили в почву в виде растворов, с последующим добавлением загрязнителя. В качестве эталона сравнения использовали образцы с нефтью, но без ремедиантов. Также в незагрязненных почвах проводили оценку влияния на них самих ремедиантов. Для этой части опыта контролем выступала почва без ремедиантов и нефти. После добавления нефти или нефтепродукта и ремедианта почву инкубировали в лабораторных сосудах при температуре 20-22°C и увлажнении 40% от массы почвы. Длительность эксперимента составляла 30, 90 или 180 суток с момента внесения вышеуказанных веществ.

**Эксперимент № 1**

Данный модельный эксперимент проводили с целью оценки влияния ремедиантов на чернозем обыкновенный, загрязненный разными нефтяными углеводородами (нефтью, мазутом и бензином). Все загрязнители были внесены в концентрации 5% от массы почвы, ремедианты вносили также в трех дозах. Часть

эксперимента с нефтью и без загрязнителя представлена в таблице 4, схема остальной части с мазутом и бензином отражена в таблице 3.

Таблица 3

Схема модельного эксперимента с черноземом обыкновенным при загрязнении мазутом, бензином

№	Варианты	№	Варианты
1.	Почва + мазут (М)	14.	Почва + бензин (Б)
2.	Почва + М + биочар 0,5 Д	15.	Почва + Б + биочар 0,5 Д
3.	Почва + М + биочар 1 Д	16.	Почва + Б + биочар 1 Д
4.	Почва + М + биочар 2 Д	17.	Почва + Б + биочар 2 Д
5.	Почва + М + нитроаммофоска 0,5 Д	18.	Почва + Б + нитроаммофоска 0,5 Д
6.	Почва + М + нитроаммофоска 1 Д	19.	Почва + Б + нитроаммофоска 1 Д
7.	Почва + М + нитроаммофоска 2 Д	20.	Почва + Б + нитроаммофоска 2 Д
8.	Почва + М + «Гумат натрия» 0,5 Д	21.	Почва + Б + «Гумат натрия» 0,5 Д
9.	Почва + М + «Гумат натрия» 1 Д	22.	Почва + Б + «Гумат натрия» 1 Д
10.	Почва + М + «Гумат натрия» 2 Д	23.	Почва + Б + «Гумат натрия» 2 Д
11.	Почва + М + «Байкал ЭМ-1» 0,5 Д	24.	Почва + Б + «Байкал ЭМ-1» 0,5 Д
12.	Почва + М + «Байкал ЭМ-1» 1 Д	25.	Почва + Б + «Байкал ЭМ-1» 1 Д
13.	Почва + М + «Байкал ЭМ-1» 2 Д	26.	Почва + Б + «Байкал ЭМ-1» 2 Д

### *Эксперимент № 2*

В данном эксперименте проводили оценку влияния ремедиантов различной природы на экологическое состояние загрязненного нефтью чернозема обыкновенного в динамике – через 30, 90 и 180 суток после начала эксперимента. Концентрация вносимой нефти составляла 5% от массы почвы, ремедианты были внесены в трех изучаемых дозах (табл. 4).

Схема модельного эксперимента с черноземом обыкновенным при внесении ремедиантов и нефти для 30, 90, 180 суток

№	Варианты	№	Варианты
1.	Контроль (почва без загрязнителя и ремедианта)	14.	Почва + нефть (Н)
2.	Почва + биочар 0,5 Д	15.	Почва + Н + биочар 0,5 Д
3.	Почва + биочар 1 Д	16.	Почва + Н + биочар 1 Д
4.	Почва + биочар 2 Д	17.	Почва + Н + биочар 2 Д
5.	Почва + нитроаммофоска 0,5 Д	18.	Почва + Н + нитроаммофоска 0,5 Д
6.	Почва + нитроаммофоска 1 Д	19.	Почва + Н + нитроаммофоска 1 Д
7.	Почва + нитроаммофоска 2 Д	20.	Почва + Н + нитроаммофоска 2 Д
8.	Почва + «Гумат натрия» 0,5 Д	21.	Почва + Н + «Гумат натрия» 0,5 Д
9.	Почва + «Гумат натрия» 1 Д	22.	Почва + Н + «Гумат натрия» 1 Д
10.	Почва + «Гумат натрия» 2 Д	23.	Почва + Н + «Гумат натрия» 2 Д
11.	Почва + «Байкал ЭМ-1» 0,5 Д	24.	Почва + Н + «Байкал ЭМ-1» 0,5 Д
12.	Почва + «Байкал ЭМ-1» 1 Д	25.	Почва + Н + «Байкал ЭМ-1» 1 Д
13.	Почва + «Байкал ЭМ-1» 2 Д	26.	Почва + Н + «Байкал ЭМ-1» 2 Д

### *Эксперимент № 3*

Эксперимент был заложен с целью оценки эффективности ремедиантов в черноземе обыкновенном при разном уровне его загрязнения нефтью. Загрязнитель вносили в 9 разных концентрациях: 0,1; 0,25; 0,5; 1; 2,5; 5; 10; 25 и 50% от массы почвы. Все ремедианты вносили только в одной в средней рекомендуемой дозе (1 Д). В предыдущих двух экспериментах (табл. 3, 4) биочар в наибольшей степени стимулировал биологические показатели чернозема, именно поэтому в данном эксперименте его вносили почву при всех уровнях загрязнения. Нитроаммофоску применяли на больших концентрациях загрязнителя, «Гумат натрия» на средних, а «Байкал ЭМ-1» на малых концентрациях (табл. 5).

Схема модельного эксперимента с черноземом обыкновенным при внесении ремедиантов и разных доз нефти

№	Варианты
1.	Контроль (почва без загрязнителя и ремедианта)
2.	Почва + биочар
3.	Почва + нитроаммофоска
4.	Почва + «Гумат натрия»
5.	Почва + «Байкал ЭМ-1»
6.	Почва + нефть 0,1% (0,1% Н)
7.	Почва + 0,1% Н + биочар
8.	Почва + 0,1% Н + «Байкал ЭМ-1»
9.	Почва + 0,25 % Н
10.	Почва + 0,25 % Н + биочар
11.	Почва + 0,25 % Н + «Байкал ЭМ-1»
12.	Почва + 0,5 % Н
13.	Почва + 0,5 % Н + биочар
14.	Почва + 0,5 % Н + «Байкал ЭМ-1»
15.	Почва + 1 % Н
16.	Почва + 1 % Н + биочар
17.	Почва + 1 % Н + «Гумат натрия»
18.	Почва + 2,5 % Н
19.	Почва + 2,5 % Н + биочар
20.	Почва + 2,5 % Н + «Гумат натрия»
21.	Почва + 5 % Н
22.	Почва + 5 % Н + биочар
23.	Почва + 5 % Н + «Гумат натрия»
24.	Почва + 10 % Н
25.	Почва + 10 % Н + биочар
26.	Почва + 10 % Н + нитроаммофоска
27.	Почва + 25 % Н
28.	Почва + 25 % Н + биочар
29.	Почва + 25 % Н + нитроаммофоска
30.	Почва + 50 % Н
31.	Почва + 50 % Н + биочар
32.	Почва + 50 % Н + нитроаммофоска

#### *Эксперимент № 4*

В данном эксперименте изучали влияние биочара на экологическое состояние чернозема обыкновенного, загрязненного разными концентрациями дизельного топлива. Как и в случае предыдущего эксперимента с нефтью,

дизельное топливо вносили в 9 разных концентрациях: 0,1; 0,25; 0,5; 1; 2,5; 5; 10; 25 и 50% от массы почвы. Биочар вносили в рекомендуемой дозе (табл. 6).

Таблица 6

Схема модельного эксперимента с черноземом обыкновенным при внесении биочара и разных доз дизельного топлива

№	Варианты
1.	Контроль (почва без загрязнителя и ремедианта)
2.	Почва + биочар
3.	Почва + дизельное топливо 0,1 % (0,1% ДТ)
4.	Почва + 0,1% ДТ + биочар
5.	Почва + 0,25% ДТ
6.	Почва + 0,25% ДТ + биочар
7.	Почва + 0,5 % ДТ
8.	Почва + 0,5 % ДТ + биочар
9.	Почва + 1 % ДТ
10.	Почва + 1 % ДТ + биочар
11.	Почва + 2,5 % ДТ
12.	Почва + 2,5 % ДТ + биочар
13.	Почва + 5 % ДТ
14.	Почва + 5 % ДТ + биочар
15.	Почва + 10 % ДТ
16.	Почва + 10 % ДТ + биочар
17.	Почва + 25 % ДТ
18.	Почва + 25 % ДТ + биочар
19.	Почва + 50 % ДТ
20.	Почва + 50 % ДТ + биочар

### *Эксперимент № 5*

В эксперименте изучали влияние всех исследуемых ремедиантов в трех разных дозах на экологическое состояние загрязненных нефтью (5% от массы почвы) бурой лесной и бурой полупустынной почв. Модельный эксперимент закладывали на 30 суток. Схемы эксперимента для каждой из почв аналогичны схеме, которая представлена в эксперименте №1 (табл. 3).

### *Эксперимент № 6*

Было изучено влияние биочара на состояние загрязненных нефтью чернозема оподзоленного, дерново-подзолистой и темно-серой лесной почв. Загрязнитель также использовали в концентрации 5% от массы почвы, сорбент применяли в рекомендуемой дозе (табл. 7).

Таблица 7

Схема модельного эксперимента с почвами Московской (дерново-подзолистой и темно-серой лесной) и Тульской (черноземом оподзоленным) областей при внесении биочара и нефти

№	Вариант
<i>Дерново-подзолистая почва</i>	
1.	Контроль (почва без загрязнителя и ремедианта)
2.	Почва + биочар
3.	Почва + нефть 5 % (5% Н)
4.	Почва + 5% Н + биочар
<i>Темно-серая лесная почва</i>	
5.	Контроль (почва без загрязнителя и ремедианта)
6.	Почва + биочар
7.	Почва + 5% Н
8.	Почва + 5% Н + биочар
<i>Чернозем оподзоленный</i>	
9.	Контроль (почва без загрязнителя и ремедианта)
10.	Почва + биочар
11.	Почва + 5% Н
12.	Почва + 5% Н + биочар

#### 2.4. Изучение экологических и биологических свойств почв

Оценку экологического состояния почв проводили на основании таких показателей, как: остаточное содержание нефтяных углеводородов, реакция среды (рН), содержание легкорастворимых солей, окислительно-восстановительный потенциал почвы, гидрофобность, токсичность (на основании показателей интенсивности начального роста и всхожести семян редиса), активность почвенных ферментов (каталазы, дегидрогеназ – для всех сроков и почв; пероксидаз, ферриредуктаз, инвертазы, уреазы, фосфатазы – для чернозема

обыкновенного на 90 сутки), численность бактерий (общая – для всех сроков и почв; численность аммонифицирующих, амилотических бактерий и актиномицетов – для чернозема обыкновенного на 90 сутки) (табл. 8).

Таблица 8

## Методы, используемые в исследовании свойств почв

№	Показатель	Метод	Единицы измерения
<i>физические и химические</i>			
1.	Остаточное содержание углеводов нефти	Метод инфракрасной спектроскопии	г/кг
2.	Реакция среды (рН)	Потенциометрический метод	-
3.	Содержание легкорастворимых солей	Кондуктометрический метод	ppm
4.	Окислительно-восстановительный потенциал (ОВП)	Потенциометрический метод	мВ
5.	Содержание гумуса	Метод И.В. Тюрина в модификации Б.А. Никитина	%
6.	Гидрофобность	Тест на время проникновения водной капли (WDPT)	сек
		Тест процентного содержания этанола (EP-test)	сек
<i>биологические</i>			
7.	Активность каталазы	Газометрический метод А. Ш. Галстяна (1978)	мл O <sub>2</sub> в 1 мин/1 г
8.	Активность дегидрогеназ	Метод А. Ш. Галстяна (1978)	мг ТФФ/10 г/24 часа
9.	Активность пероксидаз	Метод Л.А. Корягиной и Н.А. Михайловой (1986)	мг 1,4-п-бензохинона/1 г/30 мин
10.	Активность ферриредуктаз	Метод А.Ш. Галстяна и Н.А. Оганесяна (1973)	мг Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /100 г/48 ч
11.	Активность инвертазы	Колориметрический метод определения с реактивом Феллинга (Даденко, 2021)	мг глюкозы/1г/24 часа
12.	Активность уреазы	Модифицированный метод Галстяна (1978) с использованием реактива Несслера (Даденко, 2021)	мг NH <sub>3</sub> /10 г/24 часа
13.	Активность фосфатазы	Метод А.Ш. Галстяна и Э. А. Арутюняна (1966)	мг P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> /100 г /1 ч

14.	Общая численность бактерий	Метод люминесцентной микроскопии в падающем свете по Д. Г. Звягинцеву и П.А. Кожевину (1974)	млрд/г
15.	Численность аммонифицирующих бактерий (МПА)	Метод посева на плотные питательные среды	тыс. КОЕ/г
16.	Численность амилотических (КАА)	Метод посева на плотные питательные среды	тыс. КОЕ/г
17.	Численность актиномицетов (Чапек)	Метод посева на плотные питательные среды	тыс. КОЕ/г
18.	Длина корней редиса	Морфометрический метод (М. А. Бабьева, Н.К. Зенова, 1989)	мм
19.	Длина побегов редиса	Морфометрический метод (М. А. Бабьева, Н.К. Зенова, 1989)	мм
20.	Всхожесть семян редиса	Морфометрический метод (М. А. Бабьева, Н.К. Зенова, 1989)	% (от общего количества семян)

Токсичность почв оценивали с использованием показателей всхожести и интенсивности начального роста семян редиса (длина побегов и корней) (Бабьева, Зенова, 1989). В качестве фитотеста был использован редис посевной (*Raphanus sativus* L.) сорта «Жара». Также оценивали активность почвенных ферментов класса оксидоредуктаз (каталаза, дегидрогеназы, пероксидазы, ферриредуктазы) и гидролаз (уреаза, инвертаза, фосфатаза). Активность каталазы была определена газометрическим методом по А. Ш. Галстяну (1978). Изучаемый фермент является чувствительным к антропогенным воздействиям (Денисова и др., 2005; Казеев и др., 2010; Минникова и др., 2015; Даденко и др., 2021). Активность дегидрогеназ также определяли по методу А. Ш. Галстяна (1978). Дегидрогеназы выступают катализаторами широкого круга окислительных реакций, которые связаны с деградацией органического вещества почв (Zhang et al., 2010). Активность данной группы ферментов снижается в случае различных антропогенных воздействий, в том числе и нефтезагрязнения (Даденко и др., 2013; Колесников и др., 2013; Казеев и др., 2016; Roldán et al., 2005). Активность пероксидазы была определена по методу Л.А. Корягиной и Н.А. Михайловой

(1986). Кроме того, с использованием метода А.Ш. Галстяна и Н.А. Оганесяна (1973) оценивали активность ферриредуктаз по количеству образующегося двухвалентного железа (Казеев и др., 2016). Для определения активности инвертазы применяли модифицированный колориметрический метод с реактивом Феллинга, который основан на учете изменения оптических свойств раствора сахарозы до и после воздействия фермента (Даденко и др., 2021). Активность уреазы была изучена по модифицированному методу А.Ш. Галстяна (1978) с использованием реактива Несслера (Даденко, 2021). Активность фосфатазы исследовали по модифицированному методу А.Ш. Галстяна и Э.А. Арутюняна (1966). Общую численность бактерий определяли методом люминесцентной микроскопии в падающем свете по Д.Г. Звягинцеву и П.А. Кожевину (1974) (Казеев и др., 2016). Также осуществляли подсчет численности почвенных бактерий (аммонифицирующих, амилолитических и актиномицетов) методом посева на плотные питательные среды (Казеев и др., 2016).

Величину рН почвы (водной вытяжки) определяли потенциометрическим методом, при котором использовали стеклянный измерительный электрод и хлорсеребряный электрод сравнения. Содержание легкорастворимых солей почв было определено в водной вытяжке при помощи кондуктометра фирмы HANNA (кондуктометрический метод). Окислительно-восстановительный потенциал определяли потенциометрическим методом. Значение потенциала характеризует преобладание возникающих в почве процессов восстановления либо окисления (Казеев и др., 2016). Исследование содержания общего гумуса проводилось по методу И.В. Тюрина в модификации Б.А. Никитина со спектрофотометрическим окончанием по Д.С. Орлову и Н.М. Гриндель (Никитин, 1983). Гидрофобность изучаемых почв оценивали с помощью тестов Ethanol Percentage (EP) и Water Drop Penetration Time (WDPT) (Doerr 1998; Dekker 1998). Тест WDPT отражает время проникновения капли воды в почву, при этом, чем больше времени требуется для полного впитывания, тем выше гидрофобность почвы. Согласно

шкале Деккера (1998) выделяют 5 классов степени гидрофобности почв: увлажняемая, негидрофобная (класс 0,  $WDPT \leq 5$  с), слабогидрофобная (класс 1,  $WDPT = 5-60$  с), сильногидрофобная (класс 2,  $WDPT = 60-600$  с), очень сильногидрофобная (класс 3,  $WDPT = 600-3600$  с), чрезвычайно сильногидрофобная (класс 4,  $WDPT > 3600$ ). Интенсивность гидрофобности оценивали с помощью теста EP (Doerr 1998; Vadia et al. 2013). В его основе лежит явление поверхностного натяжения стандартизированных растворов этанола в воде. В нашем исследовании капли стандартизированных растворов этанола в воде (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 и 35%) наносили на образцы почвы и наблюдали за их поведением. Известно, что капля раствора с более высоким, чем у почвы, поверхностным натяжением, задержится на ней определенный промежуток времени, в то время как капля с более низким поверхностным натяжением (с большей концентрацией спирта) просочится мгновенно (Doerr 1998). Остаточное содержание нефти определяли в почве по истечении 30, 90 и 180 суток после начала эксперимента. В качестве экстрагента использовали четыреххлористый углерод. Почвенные вытяжки анализировали на анализаторе-концентратомере ИКН-025 с помощью метода инфракрасной спектроскопии (ПНД..., 1998). Метод дает возможность определения массовой концентрации нефтепродуктов в почве после ремедиации.

Кроме того, на основании изученных биологических показателей почв – длины корней и зеленых проростков, всхожести, активности каталазы, дегидрогеназ и общей численности бактерий был рассчитан разработанный на кафедре экологии и природопользования Южного федерального университета интегральный показатель биологического состояния (ИПБС) почв для всех изучаемых сроков. Показатель является наиболее информативным параметром нарушения экологических функций почвы в результате ее химического загрязнения (Вальков и др., 1999; Колесников и др., 2000, 2001, 2013).

Для ИПБС почвы за максимальное значение каждого показателя (100 %) брали данные контрольных образцов. Относительные значения этого показателя для других вариантов рассчитывали по формуле 1:

$$B_1 = \frac{B_x}{B_{max}} \times 100\% \quad (1)$$

где  $B_1$  — относительный балл биологического показателя;  $B_x$  — фактическое значение биологического показателя;  $B_{max}$  — максимальное значение биологического показателя (контроль) (Вальков и др., 1999; Колесников и др., 2000, 2001, 2013).

Затем суммировали относительные значения изучаемых биологических показателей, и для каждого варианта рассчитывали средний балл по формуле 2:

$$B_{cp} = \frac{B_1 + B_2 + \dots + B_n}{N} \quad (2)$$

где  $B_{cp}$  — средний оценочный балл показателей;  $B_1 \dots B_n$  — относительный балл показателя;  $N$  — количество показателей (Вальков и др., 1999; Колесников и др., 2000, 2001, 2013).

Итоговое значение ИПБС рассчитывали по формуле 3:

$$\text{ИПБС} = \frac{B_{cp}}{B_{ref}} \times 100\% \quad (3)$$

Где  $B_{cp}$  — это средний оценочный балл биологического показателя;  $B_{ref}$  — значение контроля, усредненное по всем биологическим показателям (Вальков и др., 1999; Колесников и др., 2000, 2001, 2013).

## 2.5. Статистическая обработка полученных результатов

Оценка достоверности полученных результатов была проведена с применением методов математической статистики. Применяли дисперсионный и корреляционный анализы. Обработку проводили с использованием программы *MS Excel* (2016) и программного пакета *Statistica 13.3*.

### ГЛАВА 3. ДИНАМИКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ЧЕРНОЗЕМА ОБЫКНОВЕННОГО ПРИ РАЗЛИЧНОМ УРОВНЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ НЕФТЬЮ И НЕФТЕПРОДУКТАМИ И ВНЕСЕНИИ РЕМЕДИАНТОВ

#### 3.1. Влияние ремедиантов на экологическое состояние чернозема обыкновенного при загрязнении нефтью, мазутом, бензином

На рисунках 2–8 и в таблицах 9–16 представлены результаты исследования экологического состояния чернозема обыкновенного при внесении ремедиантов различной природы и при загрязнении нефтью, мазутом и бензином после модельного эксперимента (30 суток). Данные почвы являются наиболее распространенными на Юге России и самыми плодородными. Черноземы занимают около 7% от всей территории России, причем из них 50% являются пахотными землями и здесь выращивают порядка 2/3 части сельскохозяйственной продукции страны (Вальков и др., 2008).

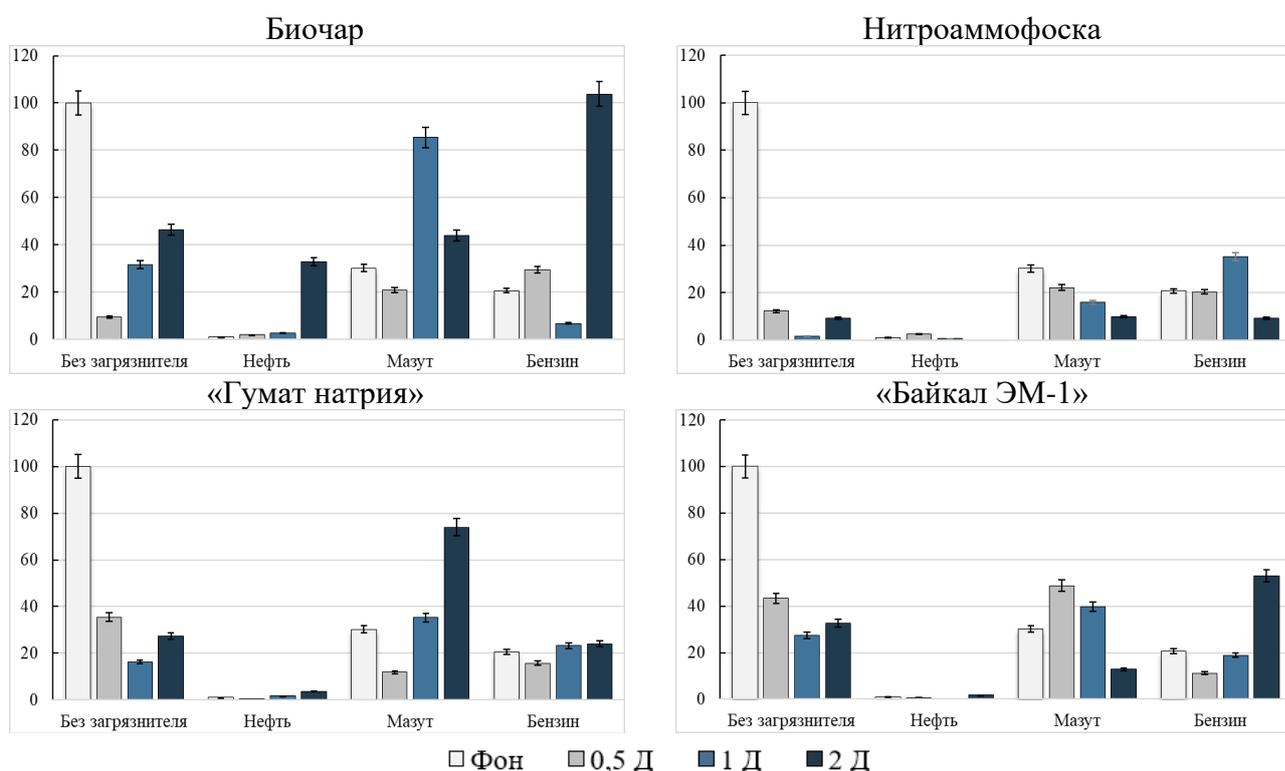


Рисунок 2 – Длина корней редиса в черноземе обыкновенном при загрязнении нефтью и нефтяными углеводородами и внесении ремедиантов, % от контроля

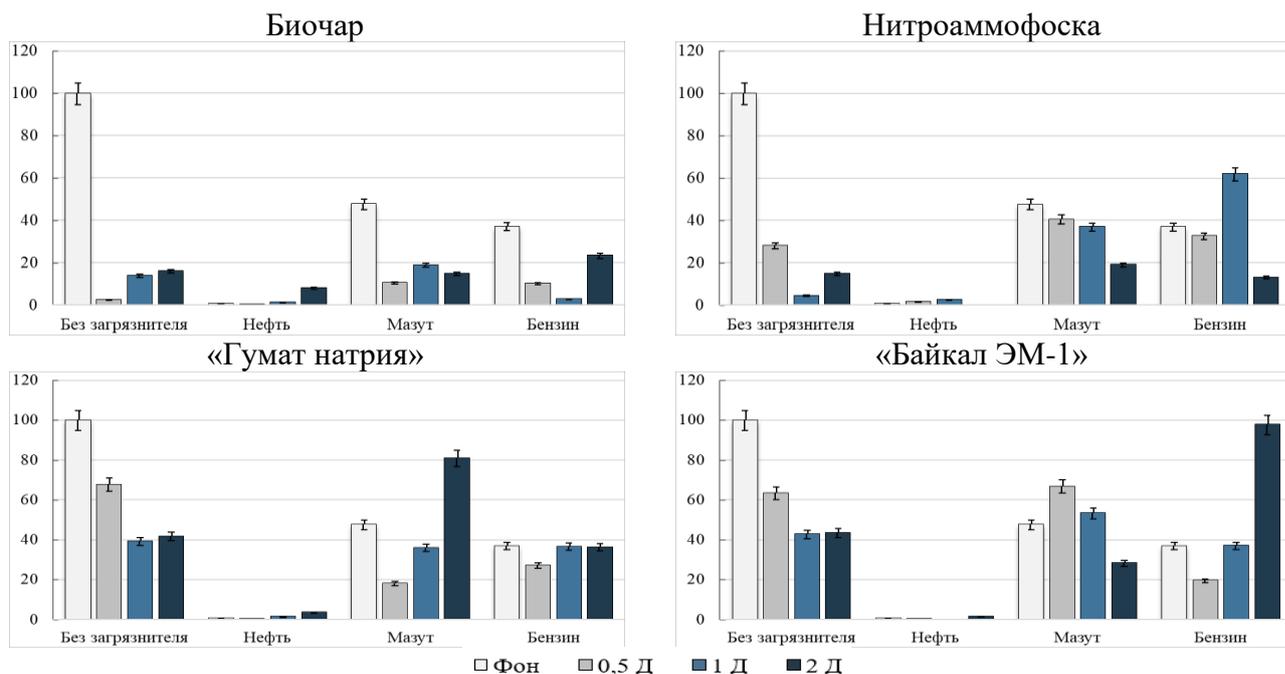


Рисунок 3 – Длина побегов редиса в черноземе обыкновенном при загрязнении нефтью и нефтяными углеводородами и внесении ремедиантов, % от контроля

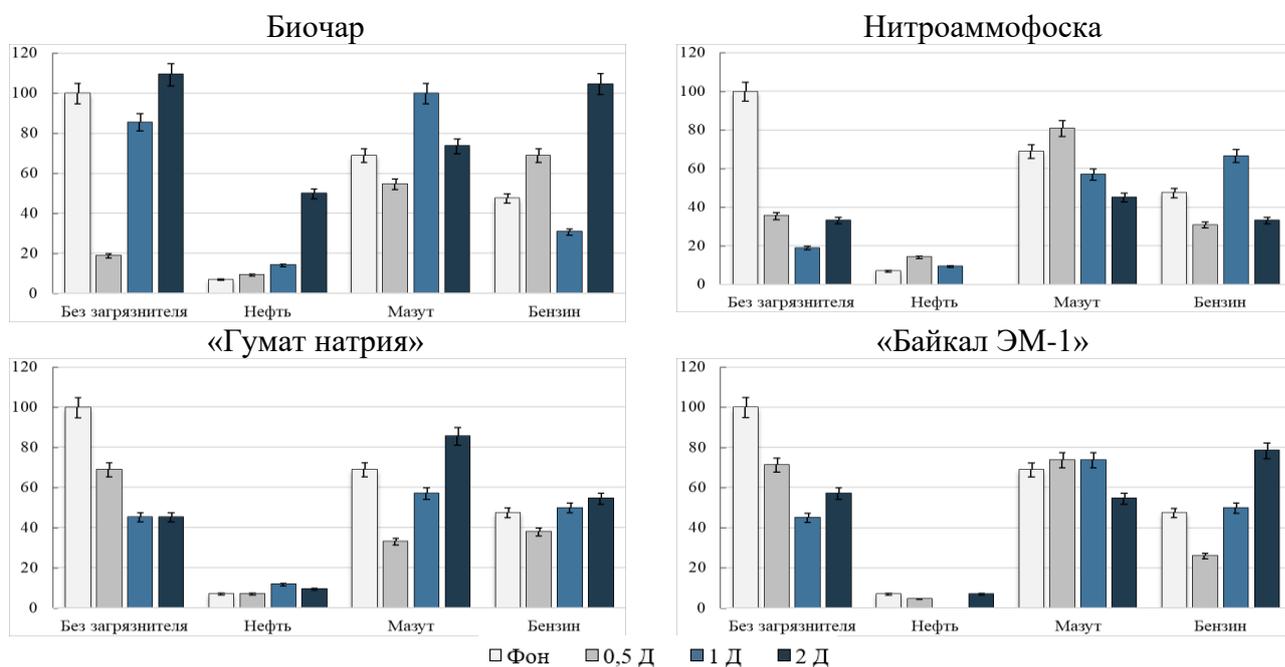


Рисунок 4 – Всхожесть семян редиса в загрязненном нефтью и нефтепродуктами черноземе обыкновенном при внесении ремедиантов, % от контроля

В ходе изучения показателей фитотоксичности (прорастания семян и интенсивности начального роста) почвы с применением ремедиантов было выявлено, что их внесение во всех дозах привело к уменьшению длины побегов и корней редиса, а также снижению всхожести в большинстве случаев. Загрязнение чернозема нефтью и нефтепродуктами оказало подавляющий эффект на все показатели фитотоксичности чернозема. При загрязнении нефтью в большинстве вариантов стимуляции показателей редиса способствует 2 Д биочара, при загрязнении мазутом – 1,2 Д биочара и 2 Д «Гумата натрия», при загрязнении бензином – 2 Д «Байкал ЭМ-1» и биочара (рис. 2–4).

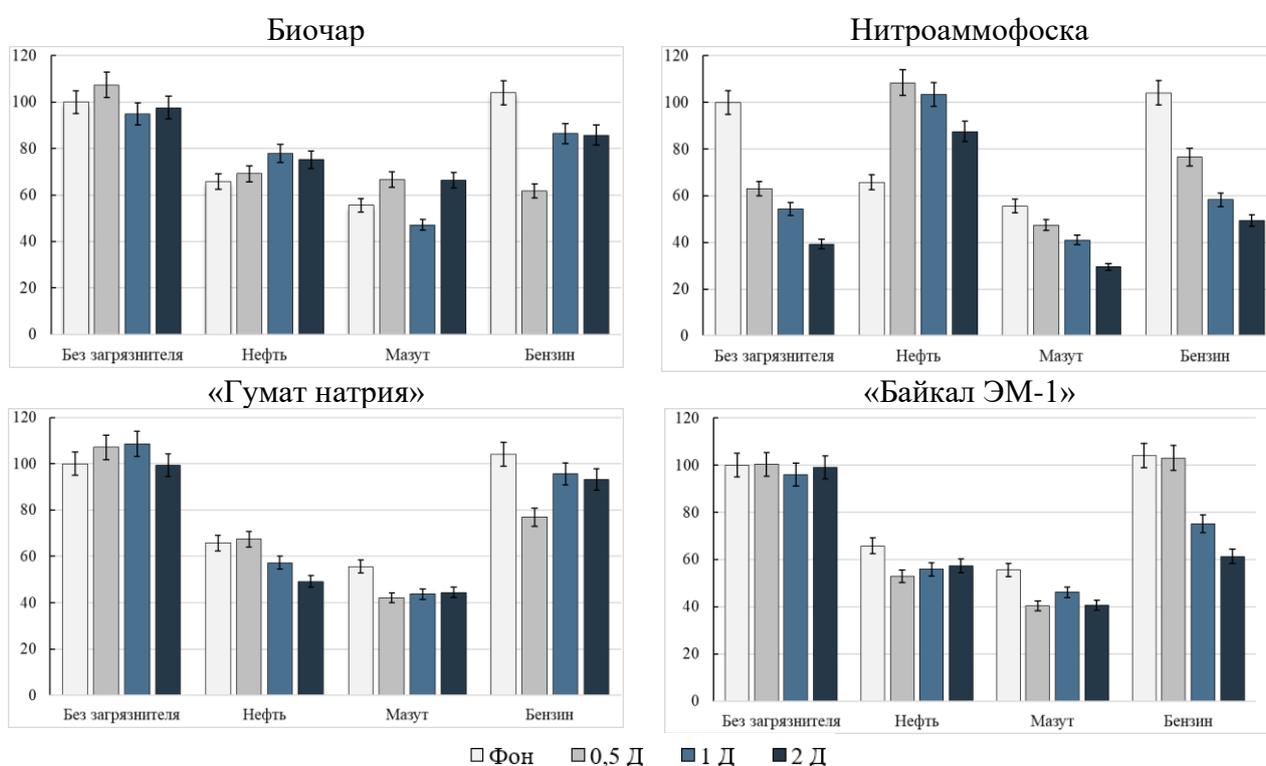


Рисунок 5 – Активность каталазы в черноземе обыкновенном при загрязнении нефтью и нефтяными углеводородами и внесении ремедиантов, % от контроля

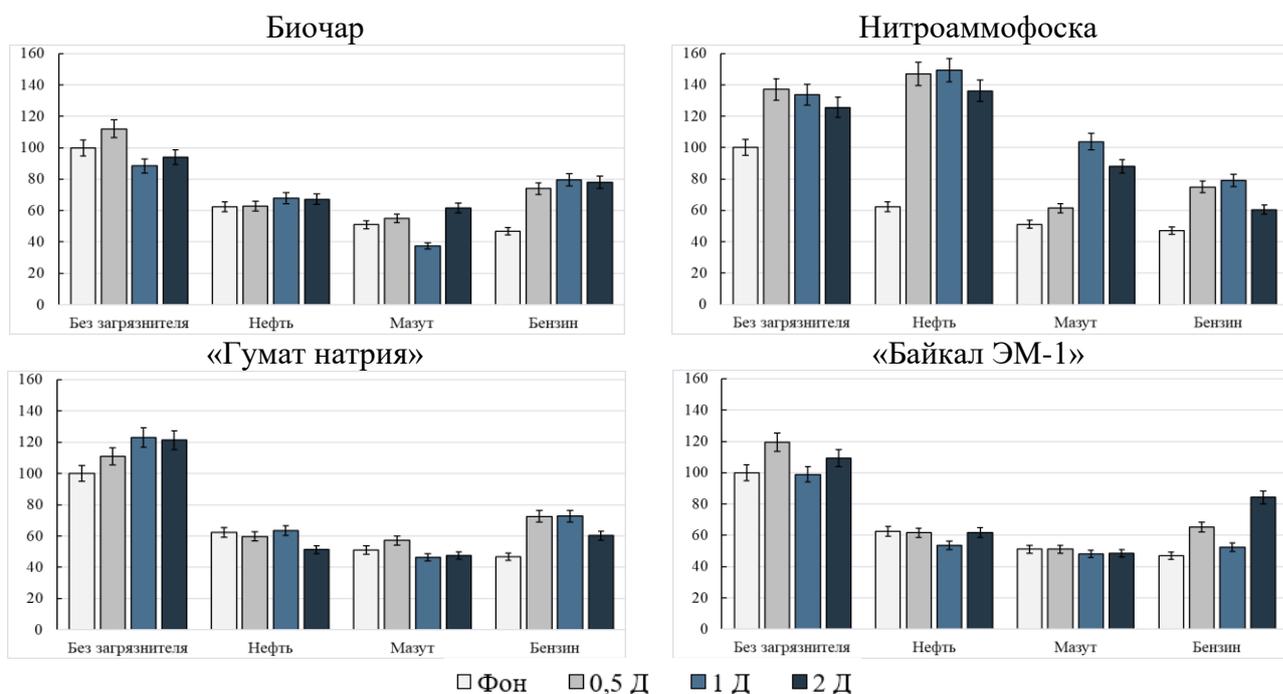


Рисунок 6 – Активность дегидрогеназ в черноземе обыкновенном при загрязнении нефтью и нефтяными углеводородами и внесении ремедиантов, % от контроля

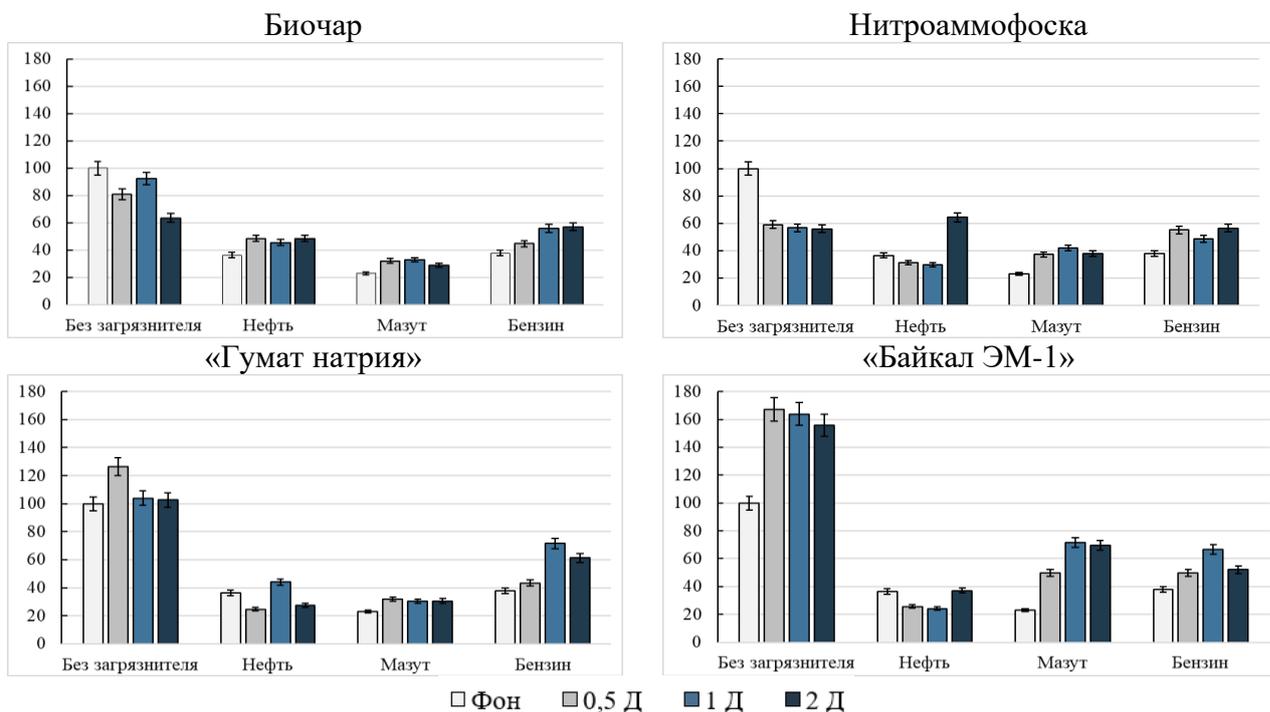


Рисунок 7 – Общая численность бактерий в черноземе обыкновенном при загрязнении нефтью и нефтепродуктами и внесении ремедиантов, % от контроля

Загрязнение чернозема обыкновенного нефтью, мазутом и бензином приводит к значительному достоверному ингибированию активности каталазы и дегидрогеназ. Применение всех ремедиантов при загрязнении нефтью и нефтепродуктами приводит к повышению активности дегидрогеназ в большинстве изучаемых доз, а возрастание активности каталазы происходит только в отдельных случаях (рис. 5,6).

Нефть и нефтепродукты также значительно снижают численность бактерий, при этом в черноземе без загрязнителя только «Байкал ЭМ-1» существенно повышает показатель относительно контроля. Увеличению общей численности бактерий в нефтезагрязненных почвах способствует биочар, нитроаммофоска в дозе 2 и «Гумат натрия» в дозе 1. В загрязненных мазутом почвах самой эффективной является нитроаммофоска, а при загрязнении бензином все дозы ремедиантов приводят к увеличению численности бактерий практически в равной степени (Ruseva et al., 2023a).

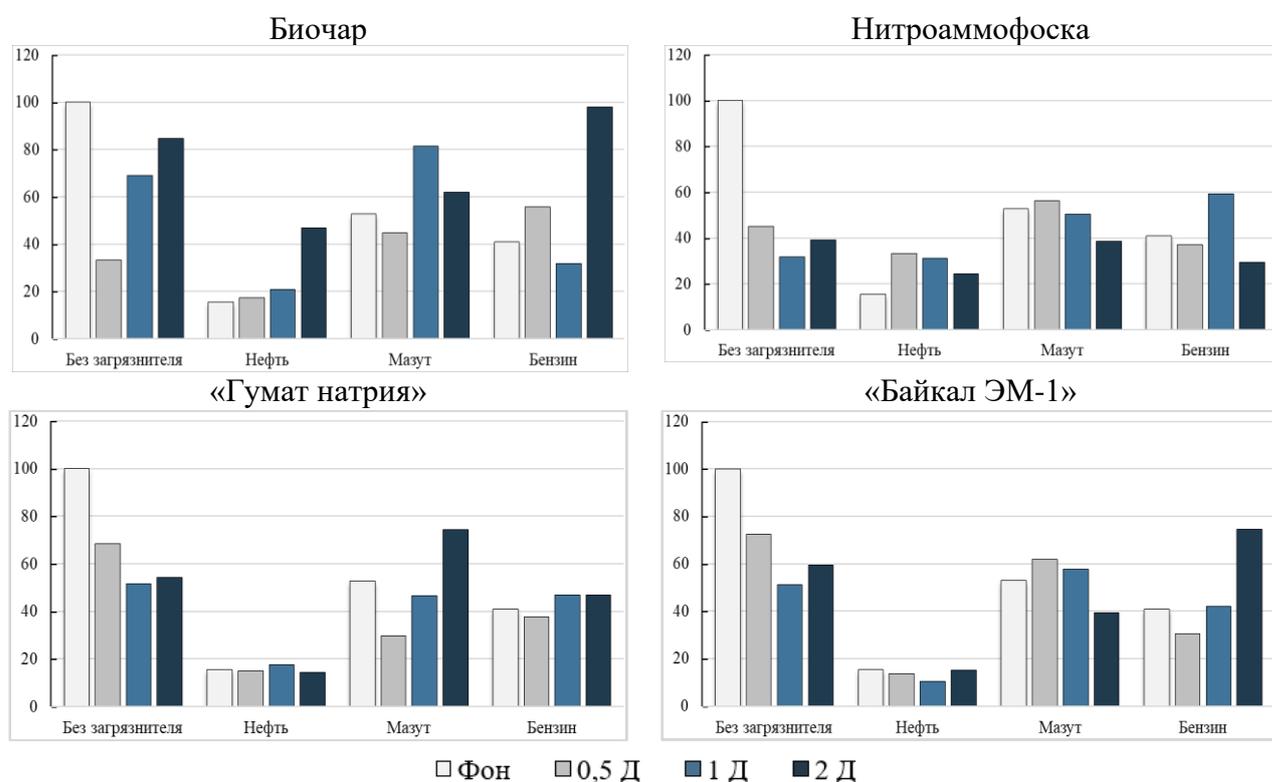


Рисунок 8 – ИПБС чернозема обыкновенного при загрязнении нефтью и нефтяными углеводородами и внесении ремедиантов, % от контроля

С целью оценки изменения свойств чернозема на основании всех изученных биологических показателей (активности каталазы и дегидрогеназ, общей численности бактерий, длины корней, побегов и всхожести семян редиса) был рассчитан интегральный показатель биологического состояния (ИПБС) почв (рис. 8).

Исследование влияния ремедиантов на чернозем обыкновенный без загрязнения показало, что все они приводят к снижению ИПБС в среднем на 51%. В большей степени к снижению показателя приводят все дозы нитроаммофоски. Возможно, данное явление связано с тем, что изучаемые почвы содержат оптимальное количество макро- и микроэлементов для нормального протекания естественных процессов, и в применении минеральных удобрений, в том числе нитроаммофоски, нет необходимости. В то же время их переизбыток негативно сказывается на биологических показателях почв и в том числе на состоянии растений, о чем можно судить по показателям фитотоксичности (Ruseva et al., 2023a).

Согласно ИПБС, по степени снижения токсичности нефтепродукты располагаются в следующем порядке: *нефть* > *бензин* > *мазут*. Однако такая тенденция сохраняется преимущественно для показателей фитотоксичности. На показатели общей численности бактерий и активность каталазы наибольшее воздействие оказал мазут, а наименьшее бензин, для активности дегидрогеназ бензин оказался самым токсичным, а нефть наименее токсичной (Минникова, Русева, 2023). Наибольшая токсичность нефти для показателей фитотоксичности отмечается также и в других исследованиях, например, при загрязнении бурой полупустынной почвы (Булуктаев, 2019).

Нитроаммофоска способствовала повышению ИПБС в загрязненной нефтью почве на 71%, а биочар – на 38% по сравнению с почвой, в которой содержится только нефть. В то же время биочар в дозе 2 оказался наиболее эффективным. На 90-й день только биочар повышал значение показателя в среднем на 20%, а его

наиболее эффективной дозой была рекомендуемая. Через 180 дней ИПБС увеличился в образцах с биочаром на 42% относительно загрязненных образцов (Ruseva et al., 2023a).

Также по усредненным в дозах значениям для биочара, нитроаммофоски, «Гумат натрия» и «Байкал ЭМ-1» была проведена оценка чувствительности биологических показателей при ремедиации чернозема обыкновенного, загрязненного нефтью, мазутом и бензином. Оценку проводили на основании степени изменения показателя относительно контроля (Минникова, Русева, 2023).

При ремедиации чернозема обыкновенного нитроаммофоской и «Байкал ЭМ-1» в случае загрязнения нефтью, мазутом либо бензином наиболее чувствительна длина корней редиса. При ремедиации почвы биочаром и «Гумат натрия» в случае загрязнения нефтью либо бензином самой чувствительной является длина корней редиса, а в вариантах с мазутом – численность почвенных бактерий (Ruseva et al., 2023a).

По степени стимуляции биологических показателей загрязненного нефтью чернозема обыкновенного ремедианты образуют ряд (от наиболее к наименее эффективному): *биочар* > *нитроаммофоска* > *«Гумат натрия»* > *«Байкал ЭМ-1»*.

При загрязнении бензином ремедианты образуют ряд: *биочар* > *«Байкал ЭМ-1»* > *«Гумат натрия»* > *нитроаммофоска*.

При загрязнении мазутом ряд имеет вид: *«Байкал ЭМ-1»* > *биочар* > *«Гумат натрия»* > *нитроаммофоска*.

На 30-е сутки от начала эксперимента в среднем для всех нефтепродуктов были определены наиболее эффективные, способствующие повышению значений биологических показателей почв, дозы ремедиантов. Для нитроаммофоски такой дозой была рекомендуемая (1 Д), для биочара, «Гумат натрия» и «Байкал ЭМ-1» – двойная (2 Д).

Кроме того, была проведена оценка физических и химических показателей чернозема. Результаты представлены в таблицах 9–16. Исследование показало,

что ремедианты способствуют некоторому снижению рН и ОВП почв. Известно, что величина окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) в нормальных условиях в черноземах составляет 400–600 мВ. Снижение ОВП до 350 мВ и ниже может свидетельствовать о развитии в почвах процессов денитрификации (Казеев и др., 2016). Все ремедианты значительно не изменяют содержания легкорастворимых солей в почве, кроме нитроаммофоски, однако при ее внесении засоления чернозема ещё не происходит (показатель не достигает уровня в 5–7 тыс. ppm). Загрязнение нефтью и нефтепродуктами повышает рН, снижает содержание легкорастворимых солей и ОВП чернозема обыкновенного (табл. 9–13).

Таблица 9

Изменение физических и химических показателей чернозема обыкновенного при внесении ремедиантов

Образцы	Дозы	рН	Общее содержание легкорастворимых солей, ppm	Окислительно-восстановительный потенциал, мВ
Контроль		6,5±0,06	275±2,9	335±2,0
Биочар	0.5 Д	6,5±0,01	285±8,7	315±7,8
	1 Д	6,5±0,01	250±5,8	322±1,5
	2 Д	6,4±0,01	370±5,8	311±1,5
Нитроаммофоска	0.5 Д	6,4±0,01	1020±0,3	298±3,4
	1 Д	6,4±0,01	1120±2,9	286±1,2
	2 Д	6,6±0,01	2930±5,8	280±1,5
«Гумат натрия»	0.5 Д	6,1±0,03	205±6,6	304±4,5
	1 Д	6,0±0,01	280±1,7	309±3,0
	2 Д	6,0±0,01	250±2,9	318±1,5
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	6,0±0,00	240±5,8	312±5,7
	1 Д	6,0±0,01	215±2,9	323±0,7
	2 Д	6,0±0,03	260±0,9	321±0,9

Изменение физических и химических показателей нефтезагрязненного чернозема  
обыкновенного при внесении ремедиантов

Образцы	Дозы	pH	Общее содержание легкорастворимых солей, ppm	Окислительно- восстановительный потенциал, мВ
Нефть		7,3±0,06	125±5,8	324±2,3
Биочар	0.5 Д	6,9±0,07	100±1,2	322±0,7
	1 Д	7,0±0,06	95±2,9	325±0,9
	2 Д	7,1±0,09	115±2,9	327±0,6
Нитроаммофоска	0.5 Д	6,5±0,08	305±2,9	321±0,9
	1 Д	6,9±0,09	100±0,6	305±1,7
	2 Д	6,9±0,13	560±5,8	315±2,7
«Гумат натрия»	0.5 Д	6,9±0,05	90±0,6	290±5,8
	1 Д	6,9±0,02	95±8,7	314±2,2
	2 Д	7,0±0,00	90±0,6	310±1,2
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	7,0±0,02	90±5,8	317±2,6
	1 Д	7,0±0,01	80±5,8	305±1,5
	2 Д	7,1±0,01	95±2,9	315±0,6

Таблица 11

Изменение физических и химических показателей чернозема обыкновенного при  
загрязнении мазутом и внесении разных доз ремедиантов

Образцы	Дозы	pH	Общее содержание легкорастворимых солей, ppm	Окислительно- восстановительный потенциал, мВ
Мазут		7,1±0,02	235±10,1	317±5,0
Биочар	0.5 Д	7,1±0,03	295±8,4	315±2,3
	1 Д	7,2±0,02	250±11,5	317±0,9
	2 Д	7,3±0,01	325±2,9	309±2,1
Нитроаммофоска	0.5 Д	7,1±0,04	545±8,7	308±2,8
	1 Д	7,0±0,07	795±11,8	310±1,2
	2 Д	7,1±0,05	1250±5,8	307±2,7
«Гумат натрия»	0.5 Д	6,8±0,03	245±11,5	306±1,8
	1 Д	6,6±0,08	180±11,5	308±2,0
	2 Д	6,7±0,08	355±8,7	306±2,3
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	7,3±0,03	310±6,4	296±2,7
	1 Д	7,4±0,03	275±2,9	315±5,2
	2 Д	7,3±0,00	790±11,5	314±3,1

Изменение физических и химических показателей чернозема обыкновенного при загрязнении бензином и внесении разных доз ремедиантов

Образцы	Дозы	pH	Общее содержание легкорастворимых солей, ppm	Окислительно-восстановительный потенциал, мВ
Бензин		7,3±0,00	220±5,8	309±4,6
Биочар	0.5 Д	7,3±0,01	245±2,9	293±4,7
	1 Д	7,3±0,07	245±8,7	308±2,0
	2 Д	7,3±0,01	240±5,8	309±1,2
Нитроаммофоска	0.5 Д	7,3±0,05	1115±2,9	307±5,7
	1 Д	7,4±0,03	1255±5,8	311±1,0
	2 Д	7,4±0,05	2140±11,5	317±2,3
«Гумат натрия»	0.5 Д	7,1±0,14	205±2,9	311±3,2
	1 Д	7,2±0,00	225±14,4	316±5,8
	2 Д	7,2±0,02	245±8,7	307±2,2
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	7,3±0,03	270±1,7	311±6,0
	1 Д	7,4±0,03	215±2,9	300±1,9
	2 Д	7,2±0,03	215±8,7	306±2,7

Изменение гидрофобности (тесты EP и WDPT) чернозема обыкновенного при внесении ремедиантов, сек.

Образцы	Дозы	процент содержания спирта в растворе						
		0	5	10	15	25	30	35
Контроль		0	0	0	0	0	0	0
Биочар	0.5 Д	0	0	0	0	0	0	0
	1 Д	0	0	0	0	0	0	0
	2 Д	1	1	1	1	1	1	1
Нитроаммофоска	0.5 Д	1	1	1	1	1	1	1
	1 Д	1	1	1	2	2	2	2
	2 Д	1	1	1	1	2	2	2
«Гумат натрия»	0.5 Д	1	1	1	1	1	1	1
	1 Д	1	1	1	1	1	1	1
	2 Д	1	1	1	1	1	1	1
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	1	1	1	1	1	1	1
	1 Д	2	1	1	1	1	2	0
	2 Д	1	1	1	1	1	1	1

Изменение гидрофобности (тесты EP и WDPT) нефтезагрязненного чернозема  
обыкновенного при внесении ремедиантов, сек.

Образцы	Дозы	процент содержания спирта в растворе						
		0	5	10	15	25	30	35
Нефть		16	15	15	10	10	10	5
Биочар	0.5 Д	10	15	15	10	10	5	5
	1 Д	10	10	10	5	5	3	3
	2 Д	10	10	10	5	4	3	3
Нитроаммофоска	0.5 Д	12	10	8	8	5	3	3
	1 Д	10	9	8	5	5	3	3
	2 Д	8	8	8	6	5	4	3
«Гумат натрия»	0.5 Д	8	8	8	6	6	5	5
	1 Д	10	10	8	9	6	6	6
	2 Д	10	10	8	9	6	6	6
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	10	8	8	9	10	10	7
	1 Д	10	8	8	8	3	3	3
	2 Д	10	6	6	6	4	3	3

Таблица 15

Изменение гидрофобности чернозема (тесты EP и WDPT) обыкновенного при  
загрязнении мазутом и внесении ремедиантов, сек.

Образцы	Дозы	процент содержания спирта в растворе						
		0	5	10	15	25	30	35
Мазут		6000	6000	6000	6000	2100	2400	2400
Биочар	0.5 Д	6000	6000	6000	6000	2100	2400	2400
	1 Д	6000	6000	6000	6000	2100	2400	2400
	2 Д	6000	6000	6000	6000	2100	2400	2400
Нитроаммофоска	0.5 Д	6000	6000	6000	6000	2100	2400	2400
	1 Д	6000	6000	2100	2100	2100	2400	2400
	2 Д	6000	6000	6000	6000	2100	2400	2400
«Гумат натрия»	0.5 Д	6000	6000	6000	6000	2100	2400	2400
	1 Д	6000	6000	6000	6000	2100	2400	2400
	2 Д	210	210	200	200	200	200	190
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	6000	6000	6000	6000	2100	2400	2400
	1 Д	6000	6000	6000	6000	2100	2400	2400
	2 Д	6000	6000	6000	6000	2100	2400	2400

Изменение гидрофобности чернозема (тесты EP и WDPT) обыкновенного при загрязнении бензином и внесении ремедиантов, сек.

Образцы	Дозы	процент содержания спирта в растворе						
		0	5	10	15	25	30	35
Бензин		1	1	1	1	1	1	1
Биочар	0.5 Д	3	3	2	1	1	1	1
	1 Д	2	2	2	1	1	1	1
	2 Д	3	2	2	2	2	1	1
Нитроаммофоска	0.5 Д	3	2	2	1	1	1	1
	1 Д	3	2	2	1	1	1	1
	2 Д	2	2	2	2	2	2	2
«Гумат натрия»	0.5 Д	2	2	2	1	1	1	2
	1 Д	2	1	1	1	1	1	1
	2 Д	1	1	1	1	1	1	1
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	2	1	1	1	1	1	1
	1 Д	1	1	1	1	1	1	1
	2 Д	2	2	1	1	1	1	1

Результаты теста Water Drop Penetration Time (WDPT) показали, что чернозем обыкновенный по степени гидрофобности относится к негидрофобным почвам (табл. 13). Внесение всех ремедиантов в почву без загрязнителя (кроме биочара в дозах 0,5 и 1 Д) вызывает повышение значений показателя относительно контроля, однако изменения степени гидрофобности в данном случае не происходит. Загрязнение чернозема нефтью увеличивает гидрофобность почвы в 7–15 раз по сравнению с контролем, при этом класс (уровень) гидрофобности повышается до слабогидрофобной, внесение мазута делает чернозем чрезвычайно сильногидрофобным, внесение бензина способствует повышению значения гидрофобности, однако, почва остается негидрофобной (табл. 14–16). Ремедианты способствуют снижению значений показателя в большинстве вариантов при загрязнении нефтью и бензином, при этом в загрязненных мазутом почвах существенное снижение класса гидрофобности до сильногидрофобной происходит только при внесении 2 Д «Гумат натрия». Также было отмечено, что интенсивность гидрофобности (тест

ЕР) при внесении любого загрязнителя снижается с повышением концентрации этанола в растворе.

### 3.2. Влияние ремедиантов на экологическое состояние нефтезагрязненного чернозема обыкновенного через 30, 90 и 180 суток эксперимента

Через 90 суток от начала эксперимента исследован расширенный перечень биологических показателей. Помимо тех, которые были изучены в черноземе обыкновенном на 30-е сутки, изучали также активность таких ферментов, как инвертаза, пероксидаза, ферриредуктаза, фосфатаза и уреазы. Кроме того, исследовали численность актиномицетов, амилолитических и аммонифицирующих бактерий (табл. 17–28, рис. 9–25).

Таблица 17

Изменение показателей фитотоксичности чернозема обыкновенного по истечении 90 суток с момента внесения ремедиантов, % от контроля

Образцы	Дозы	Длина корней	Длина побегов	Всхожесть
Контроль		100±8,6	100±6,7	100±6,4
Биочар	0.5 Д	49±5,4	35±4,6	41±5,7
	1 Д	77±7,7	42±7,2	54±6,4
	2 Д	113±6,9	63±2,5	63±2,0
Нитроаммофоска	0.5 Д	23±4,3	14±2,9	20±1,8
	1 Д	22±6,7	18±8,7	24±6,5
	2 Д	14±10,1	7±6,3	10±9,2
«Гумат натрия»	0.5 Д	67±5,6	37±5,8	41±7,7
	1 Д	58±4,8	35±8,6,6	41±7,4
	2 Д	91±6,6	46±6,4	44±6,3
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	192±8,4	116±3,7	98±2,0
	1 Д	100±4,9	46±8,2	49±2,3
	2 Д	79±7,7	46±7,0	34±4,5

Изменение активности ферментов и численности бактерий в черноземе обыкновенном по истечении 90 суток с момента внесения ремедиантов, % от контроля

Образцы	Дозы	Активность каталазы	Активность дегидрогеназ	Численность бактерий
Контроль		100±5,4	100±0,7	100±4,4
Биочар	0.5 Д	96±9,5	89±0,7	64±3,5
	1 Д	100±4,0	98±1,9	63±5,4
	2 Д	78±8,8	74±4,9	77±2,7
Нитроаммофоска	0.5 Д	32±10,8	43±1,8	37±6,7
	1 Д	16±7,7	38±3,0	26±4,6
	2 Д	23±3,5	36±3,0	32±4,3
«Гумат натрия»	0.5 Д	93±2,0	89±0,3	43±2,8
	1 Д	99±4,4	88±0,6	31±2,8
	2 Д	94±0,9	95±2,7	130±1,6
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	91±3,4	103±1,9	26±3,3
	1 Д	91±2,2	89±1,5	30±4,5
	2 Д	92±4,2	83±5,2	26±5,1

Таблица 19

Изменение показателей фитотоксичности чернозема обыкновенного по истечении 180 суток с момента внесения ремедиантов, % от контроля

Образцы	Дозы	Длина корней	Длина побегов	Всхожесть
Контроль		100±7,3	100±6,5	100±2,7
Биочар	0.5 Д	28±6,7	33±9,0	77±4,0
	1 Д	67±5,2	71±4,8	69±7,4
	2 Д	52±2,8	57±2,5	56±6,5
Нитроаммофоска	0.5 Д	23±4,3	14±2,9	20±1,8
	1 Д	22±6,7	18±8,7	24±6,5
	2 Д	14±10,1	7±6,3	10±9,2
«Гумат натрия»	0.5 Д	67±5,6	37±5,8	41±7,7
	1 Д	58±4,8	35±8,6,6	41±7,4
	2 Д	91±6,6	46±6,4	44±6,3
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	192±8,4	116±3,7	98±2,0
	1 Д	100±4,9	46±8,2	49±2,3
	2 Д	79±7,7	46±7,0	34±4,5

Изменение активности ферментов и численности бактерий в черноземе обыкновенном по истечении 180 суток с момента внесения ремедиантов, % от контроля

Образцы	Дозы	Активность каталазы	Активность дегидрогеназ	Численность бактерий
Контроль		100±5,8	100±0,5	100±6,6
Биочар	0.5 Д	106±3,4	93±0,6	19±4,8
	1 Д	91±4,8	82±5,2	35±5,3
	2 Д	73±5,2	76±4,2	42±7,4
Нитроаммофоска	0.5 Д	48±5,0	42±2,1	39±2,1
	1 Д	19±5,4	26±4,9	37±3,5
	2 Д	11±7,2	25±4,6	31±3,8
«Гумат натрия»	0.5 Д	96±4,5	840,5	21±7,9
	1 Д	96±2,4	76±4,4	102±0,2
	2 Д	100±2,3	98±1,1	63±4,6
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	95±6,1	99±0,7	24±4,4
	1 Д	99±3,8	92±1,5	54±0,9
	2 Д	102±4,7	90±2,0	15±6,1

Результаты исследования биологических показателей чернозема обыкновенного при загрязнении нефтью и при внесении ремедиантов в динамике (через 30, 90 и 180 суток) представлены на рисунках 9–13.

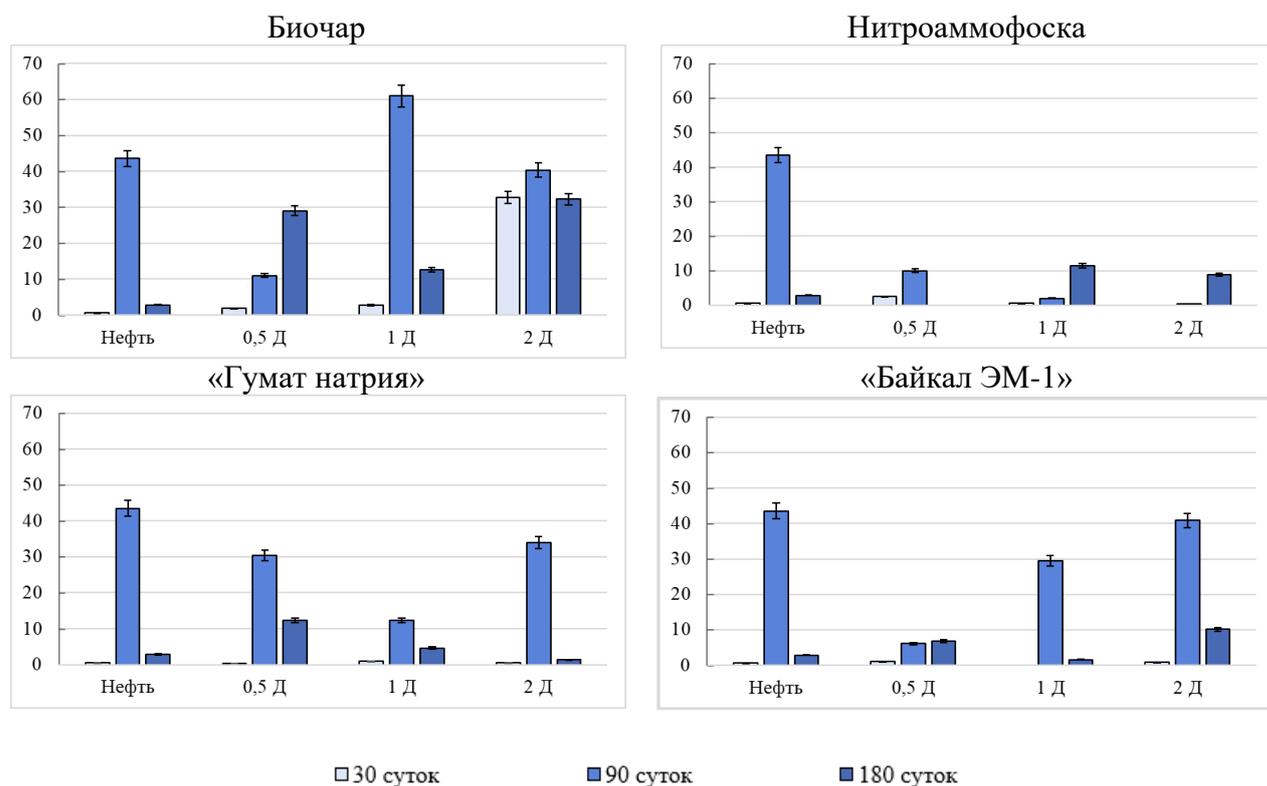


Рисунок 9 – Длина корней редиса в нефтезагрязненном черноземе обыкновенном при внесении ремедиантов, % от контроля

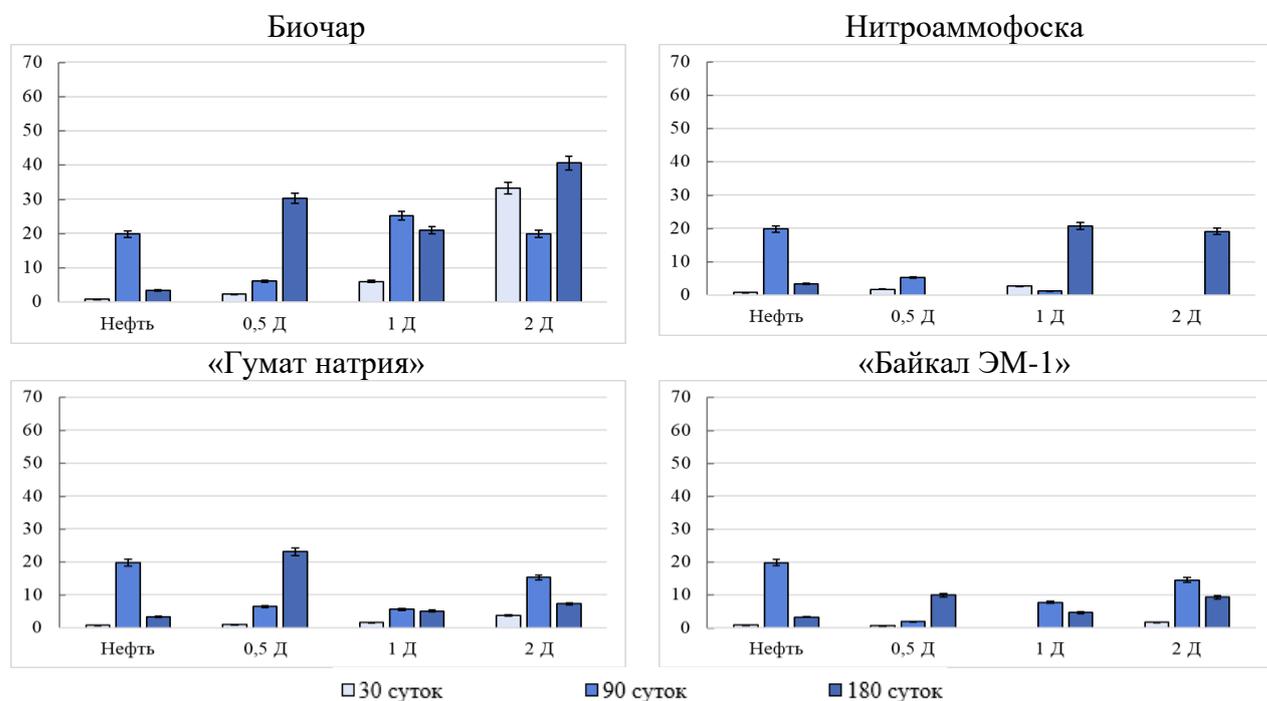


Рисунок 10 – Длина побегов редиса в нефтезагрязненном черноземе обыкновенном при внесении ремедиантов, % от контроля

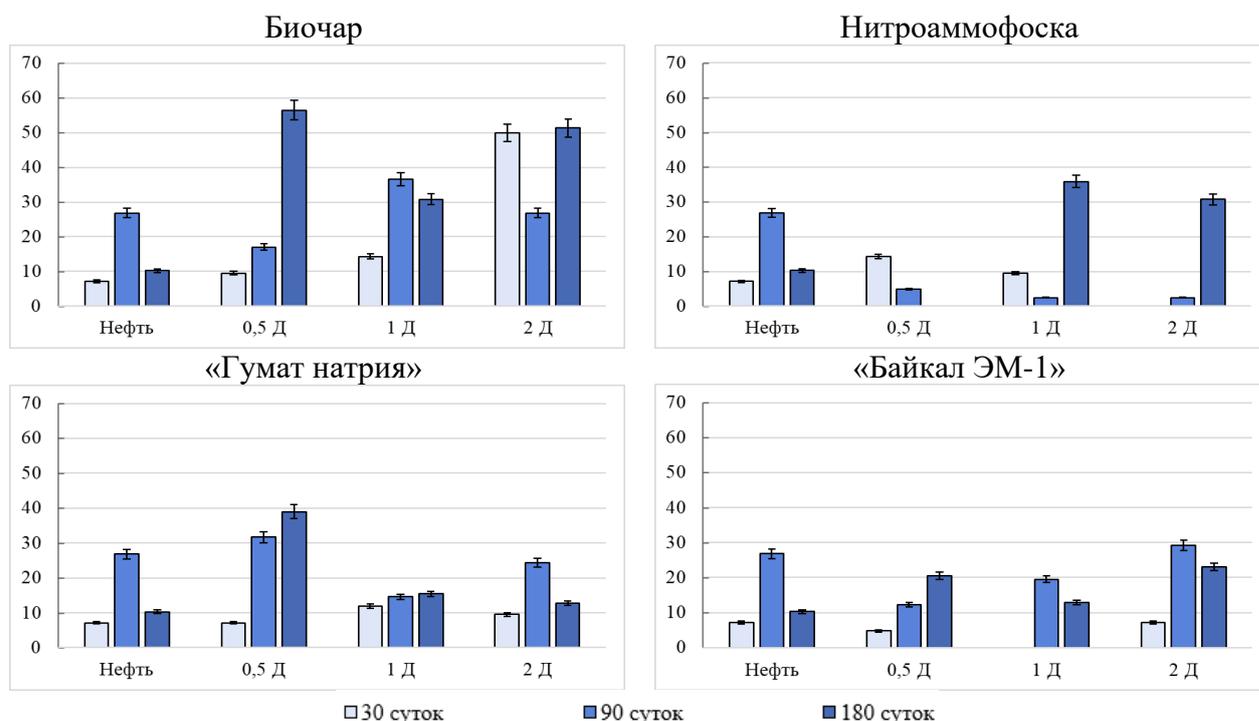


Рисунок 11 – Всхожесть семян редиса в нефтезагрязненном черноземе обыкновенном при внесении ремедиантов, % от контроля

Было выявлено, что в наибольшей степени именно на 30 сутки после внесения нефти в чернозем снижаются значения показателей фитотоксичности: длины корней на 99%, побегов на 99% и всхожести на 93% относительно контроля. К 90 суткам все показатели возрастают, при этом к 180 суткам по сравнению с 90-ми наблюдается некоторое снижение длины корней в почве с нефтью, но значения длины побегов и всхожести увеличиваются. Внесение биочара во всех дозах на 30 сутки способствовало значительному достоверному увеличению длины корней, побегов и всхожести редиса относительно нефтезагрязненного чернозема. Менее существенная стимуляция длины побегов происходит при использовании нитроаммофоски, всхожести – при использовании нитроаммофоски и гумата натрия (рис. 2). На 90 сутки использование только 1 Д биочара для всех показателей, 0,5 Д гумата натрия и 2 Д «Байкал ЭМ-1» оказалось эффективным для всхожести, а на 180 все ремедианты в большинстве доз привели к увеличению показателей.

Нефть ингибирует активность каталазы и дегидрогеназ на 64 и 59% соответственно в среднем за три срока относительно незагрязненной почвы. На 30 сутки в нефтезагрязненном черноземе на активность каталазы и дегидрогеназ положительно повлиял биочар и нитроаммофоска, при этом достоверное повышение активности ферментов отмечено только для нитроаммофоски. Активность каталазы после 90 суток повышает биочар и нитроаммофоска во всех дозах, 0,5 и 2 Д «Гумат натрия», а после 180 суток – 1 и 2 Д биочара, 1 Д нитроаммофоски и 0,5 Д «Байкал ЭМ-1», все остальные дозы и ремедианты на данном сроке привели даже к ингибированию фермента. Активации дегидрогеназ на 90 сутки способствуют все ремедианты, однако наиболее значимое увеличение наблюдается в только случае нитроаммофоски в дозах 0,5 и 2 Д. На 180 сутки к незначительному повышению показателя приводят 1 и 2 Д биочара, 0,5 Д нитроаммофоски и 2 Д «Гумат натрия» (рис. 12, 13).

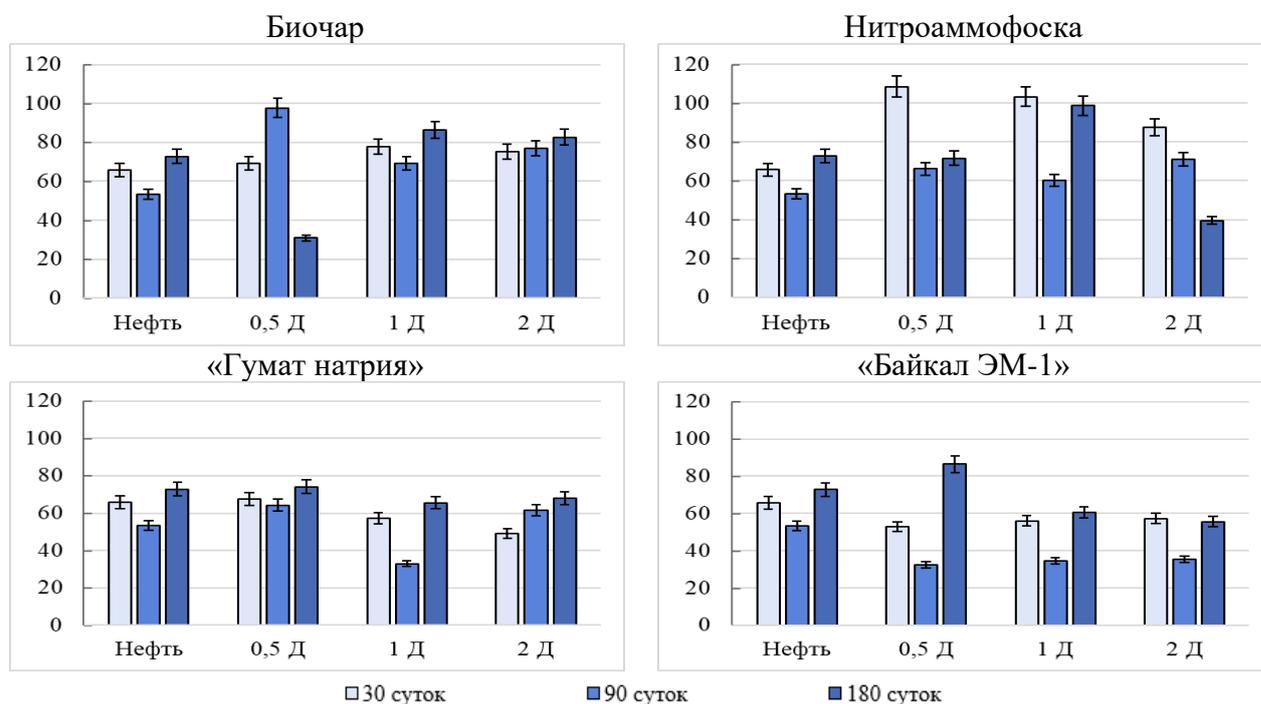


Рисунок 12 – Активность каталазы в нефтезагрязненном черноземе обыкновенном при внесении ремедиантов, % от контроля

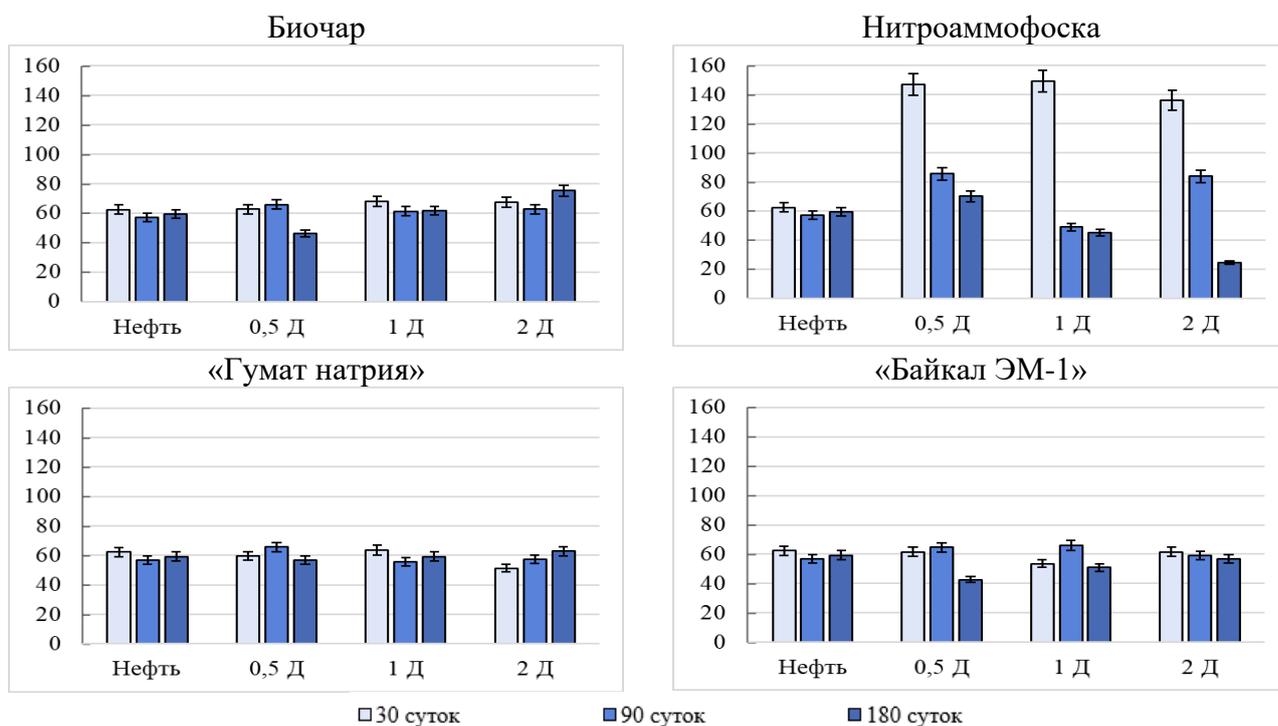


Рисунок 13 – Активность дегидрогеназ в нефтезагрязненном черноземе обыкновенном при внесении ремедиантов, % от контроля

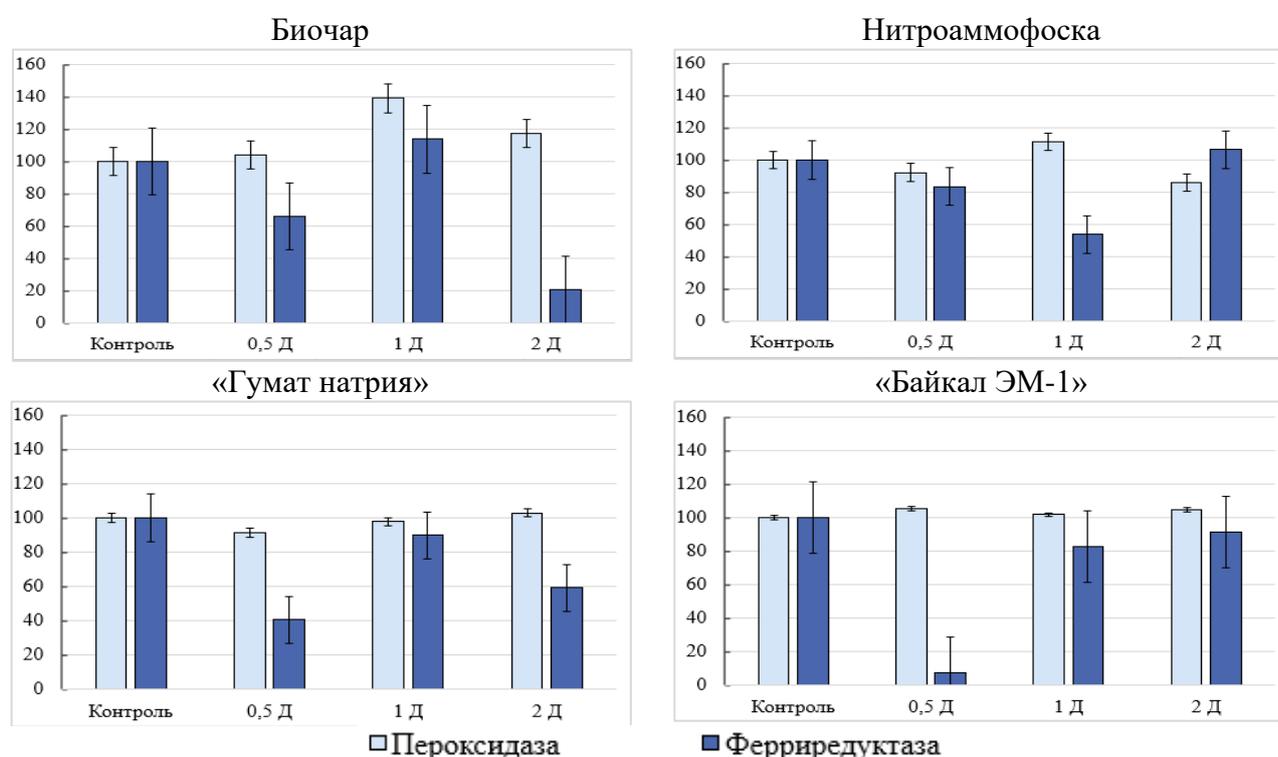


Рисунок 14 – Активность пероксидазы и ферриредуктазы в черноземе обыкновенном при внесении ремедиантов, % от контроля

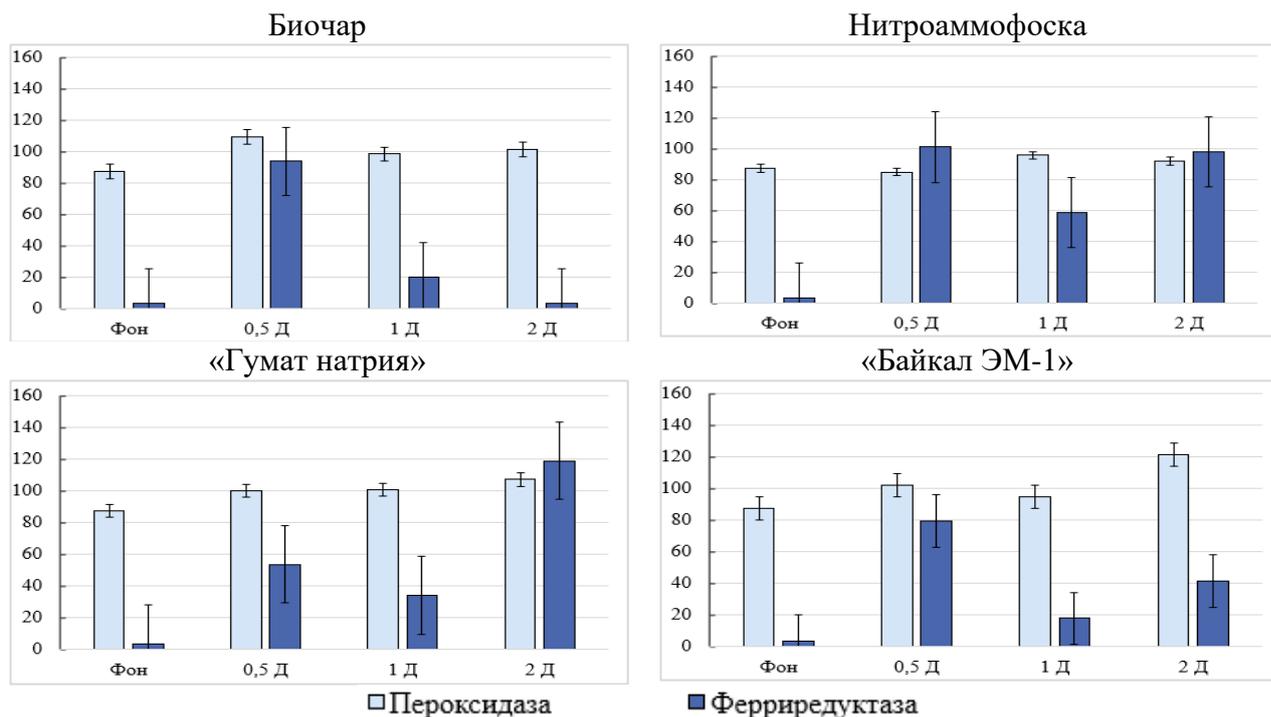


Рисунок 15 – Активность пероксидазы и ферриредуктазы в нефтезагрязненном черноземе обыкновенном при внесении ремедиантов, % от контроля

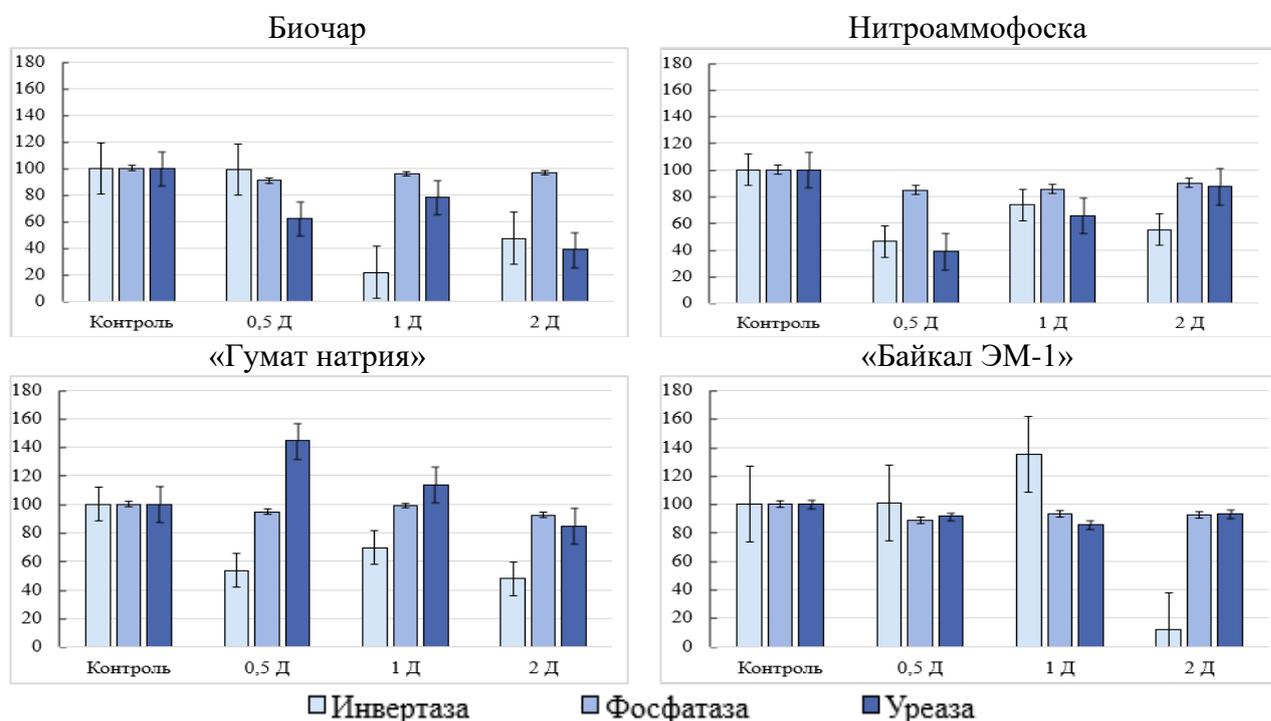


Рисунок 16 – Активность инвертазы, фосфатазы и уреазы в черноземе обыкновенном при внесении ремедиантов, % от контроля

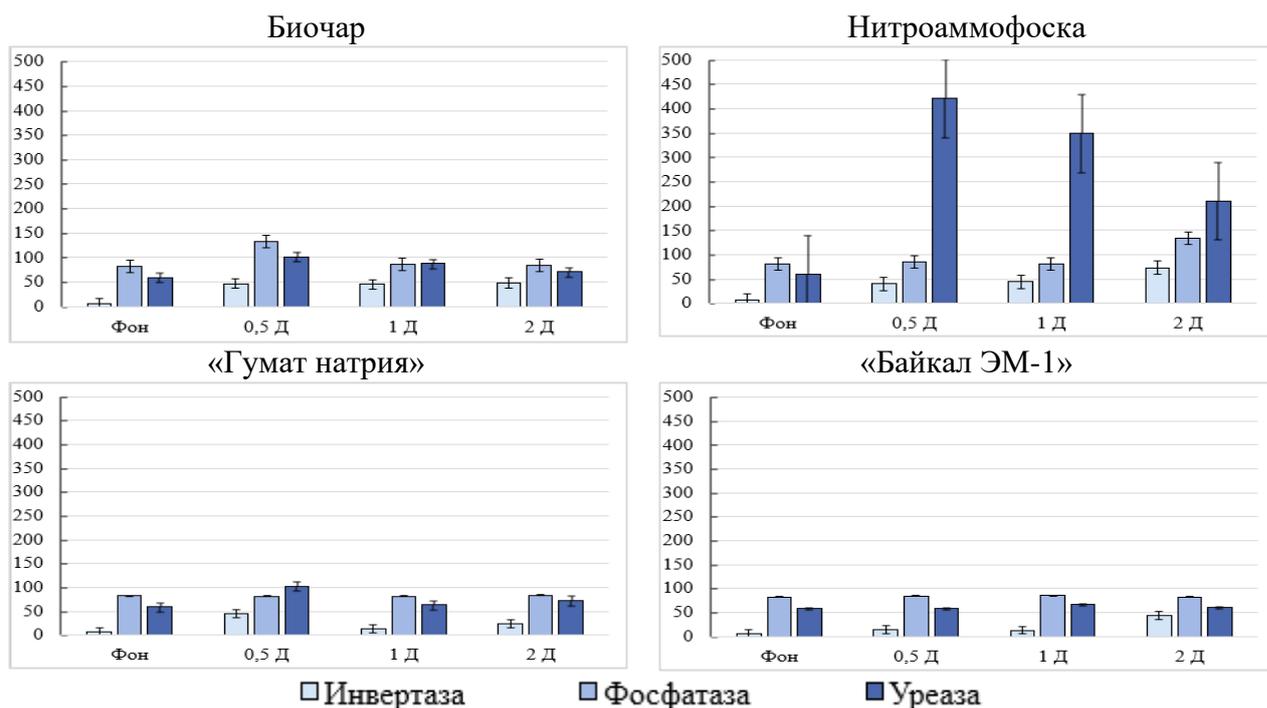


Рисунок 17 – Активность инвертазы, фосфатазы и уреазы в нефтезагрязненном черноземе обыкновенном при внесении ремедиантов, % от контроля

На основании показателя чувствительности ферментов-оксидоредуктаз загрязненного нефтью чернозема обыкновенного через 90 суток после внесения ремедиантов был составлен ряд (от наиболее к наименее чувствительному): *ферриредуктазы* > *пероксидазы* > *дегидрогеназы* > *каталаза*.

По чувствительности ферментов-гидролаз при внесении в загрязненную почву ремедиантов образован ряд: *уреаза* > *фосфатаза* > *инвертаза*.

Наибольшая чувствительность уреазы в почве связана с тем, что активность данного фермента изменяется при загрязнении почв нефтью, что выступает диагностическим критерием их состояния (Киреева и др., 2001; Даденко и др., 2021). По степени чувствительности всех изученных ферментов после внесения ремедиантов в загрязненный нефтью чернозем обыкновенный построен ряд (от наиболее к наименее чувствительному): *ферриредуктазы* > *пероксидазы* > *уреаза* > *фосфатаза* > *дегидрогеназы* > *инвертаза* > *каталаза* (Минникова и др., 2022а).

Нефть снижает общую численность бактерий в черноземе после 30 суток на 64%, после 90 суток на 76%, после 180 на 50%. Самым эффективным ремедиантом для показателя на 30 и 90 сутки в среднем по трем дозам оказался биочар, повышающий численность микроорганизмов на 31 и на 76% соответственно, а на 180 сутки – «Байкал ЭМ-1», который увеличивает численность бактерий на 12% при сравнении с загрязненной почвой (рис. 18).

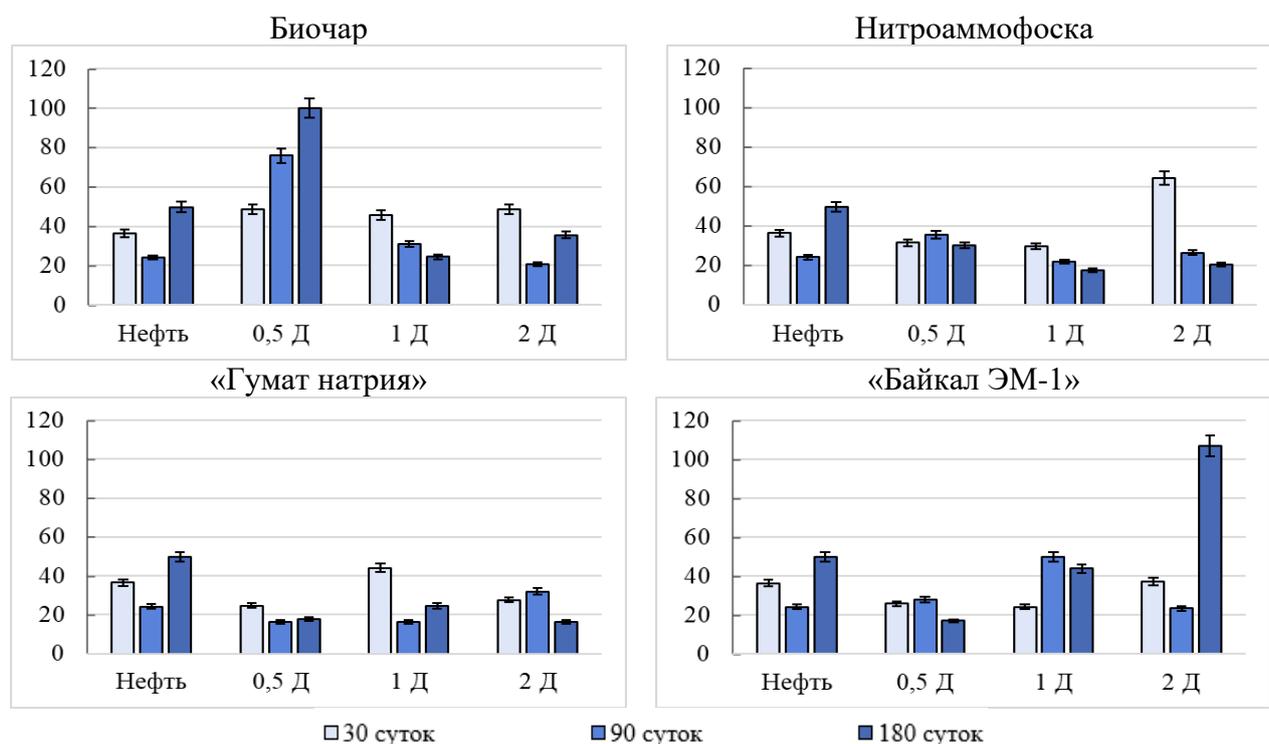


Рисунок 18 – Общая численность бактерий в нефтезагрязненном черноземе обыкновенном при внесении ремедиантов, % от контроля

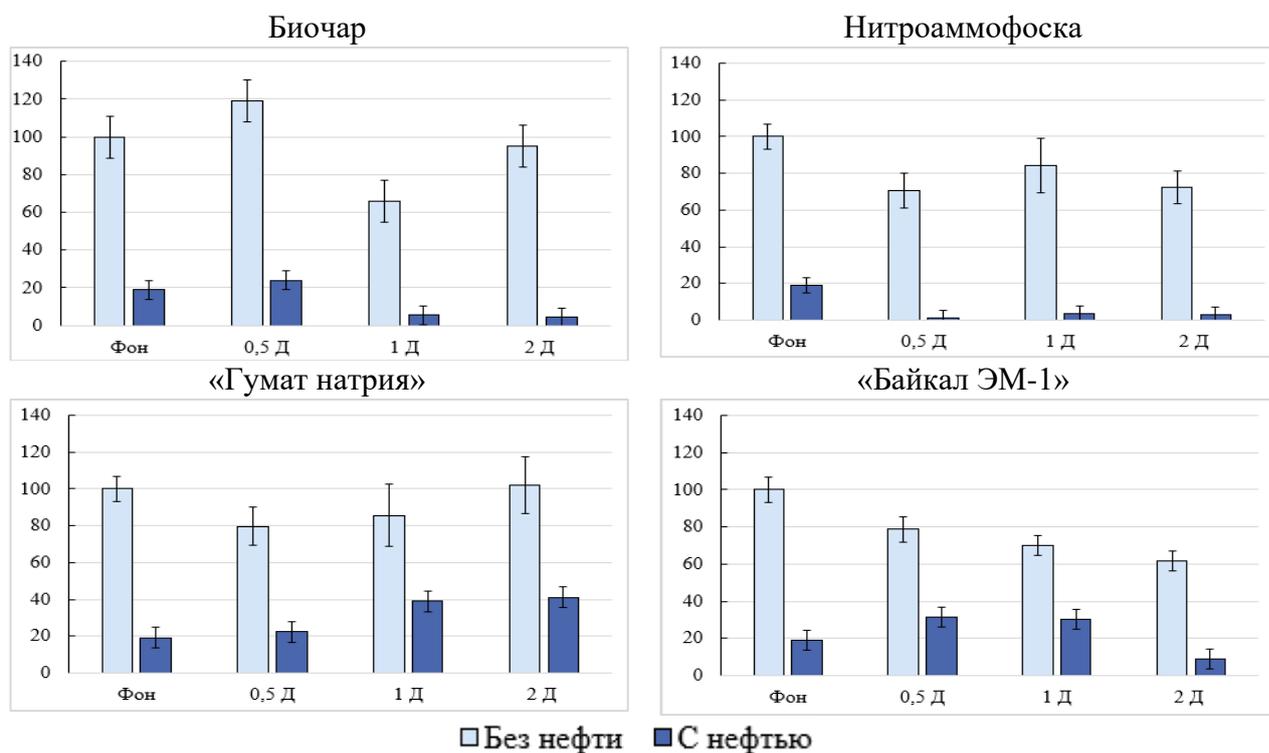


Рисунок 19 – Численность актиномицетов в нефтезагрязненном черноземе обыкновенном при внесении ремедиантов, % от контроля

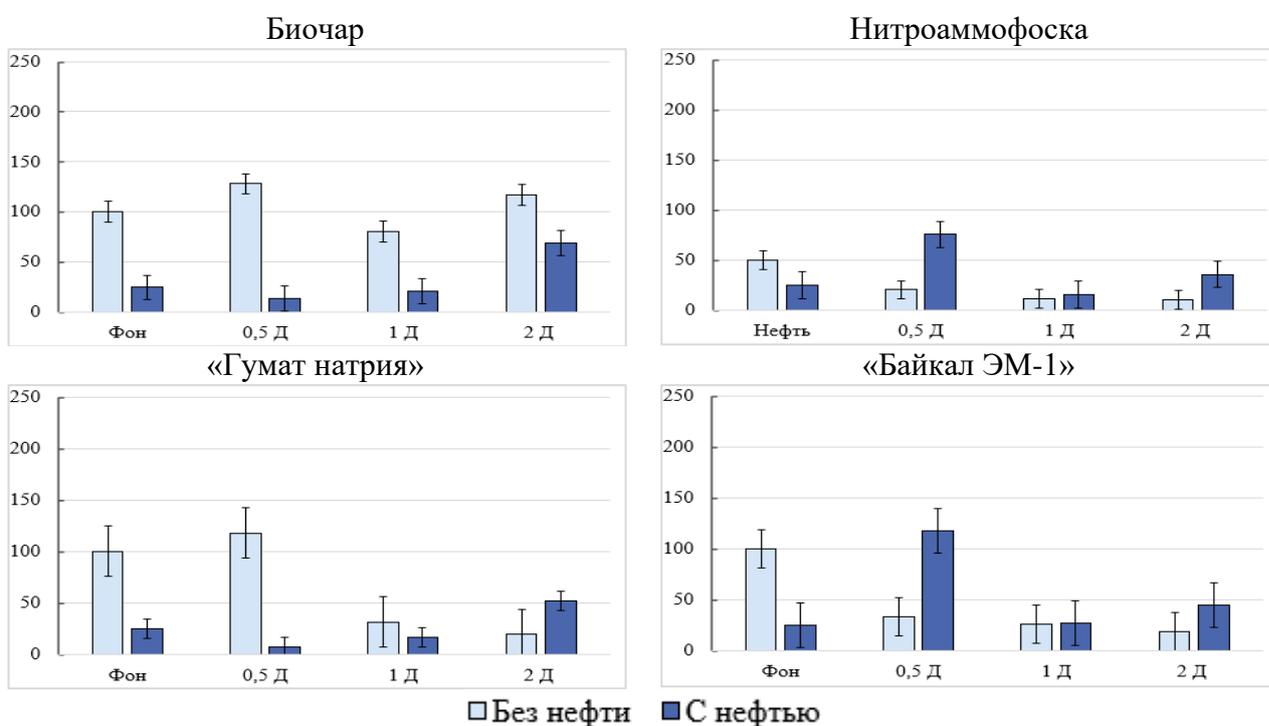


Рисунок 20 – Численность амилотических бактерий в нефтезагрязненном черноземе обыкновенном при внесении ремедиантов, % от контроля

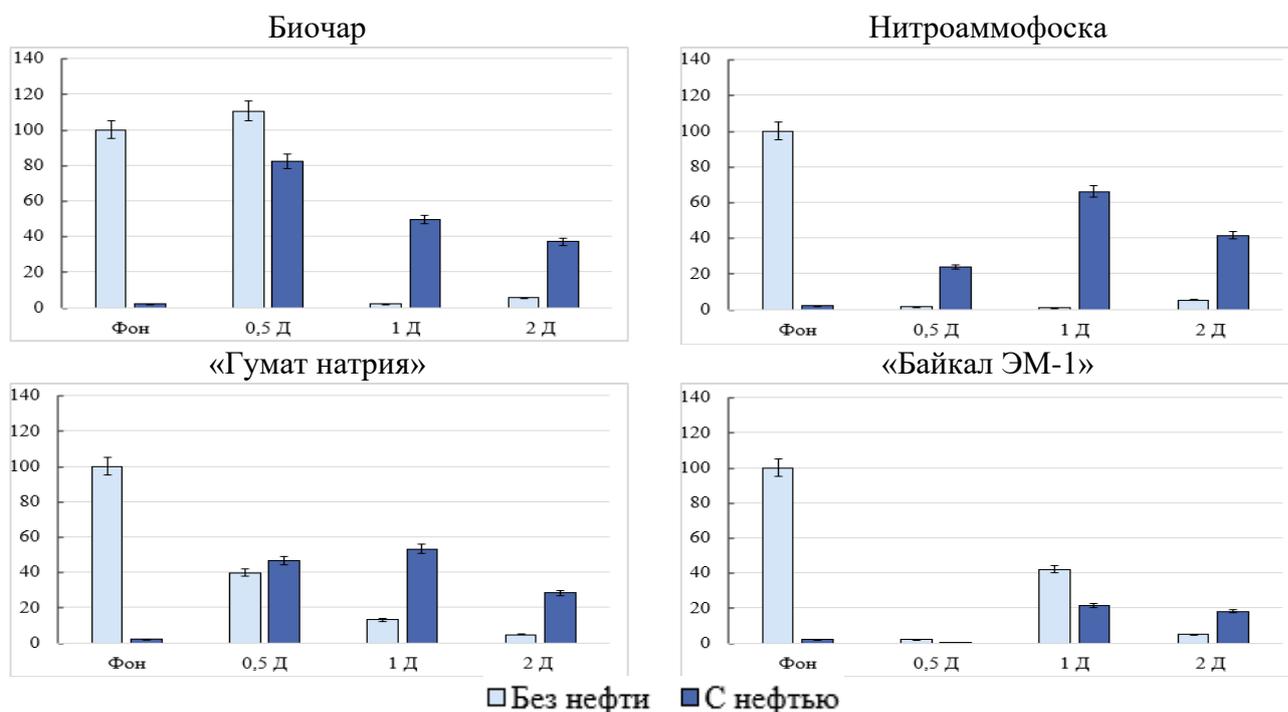


Рисунок 21 – Численность аммонифицирующих бактерий в нефтезагрязненном черноземе обыкновенном при внесении ремедиантов, % от контроля

Биочар оказался также самым эффективным в стимуляции аммонифицирующих бактерий, повышающим их численность на 35–80% относительно загрязненной почвы без ремедиантов. Для актиномицетов наиболее эффективным ремедиантом оказался «Гумат натрия» (стимуляция на 20–22%). Численность амилотических бактерий в наибольшей степени (на 156%) повышал «Байкал ЭМ-1» (Минникова и др., 2023b). Выявлено, что наиболее чувствительными из изучаемых микроорганизмов являются аммонифицирующие бактерии. Согласно литературным данным, в случае появления в почвах свежего органического вещества, группа аммонифицирующих организмов становится наиболее многочисленной и разнообразной (Казеев и др., 2016). Источником дополнительного органического вещества в изучаемом черноземе обыкновенном может служить вносимая в почву нефть. Информативность каждого проанализированного вида микроорганизмов оценивали по тесноте корреляции с содержанием нефти в почве после ремедиации.

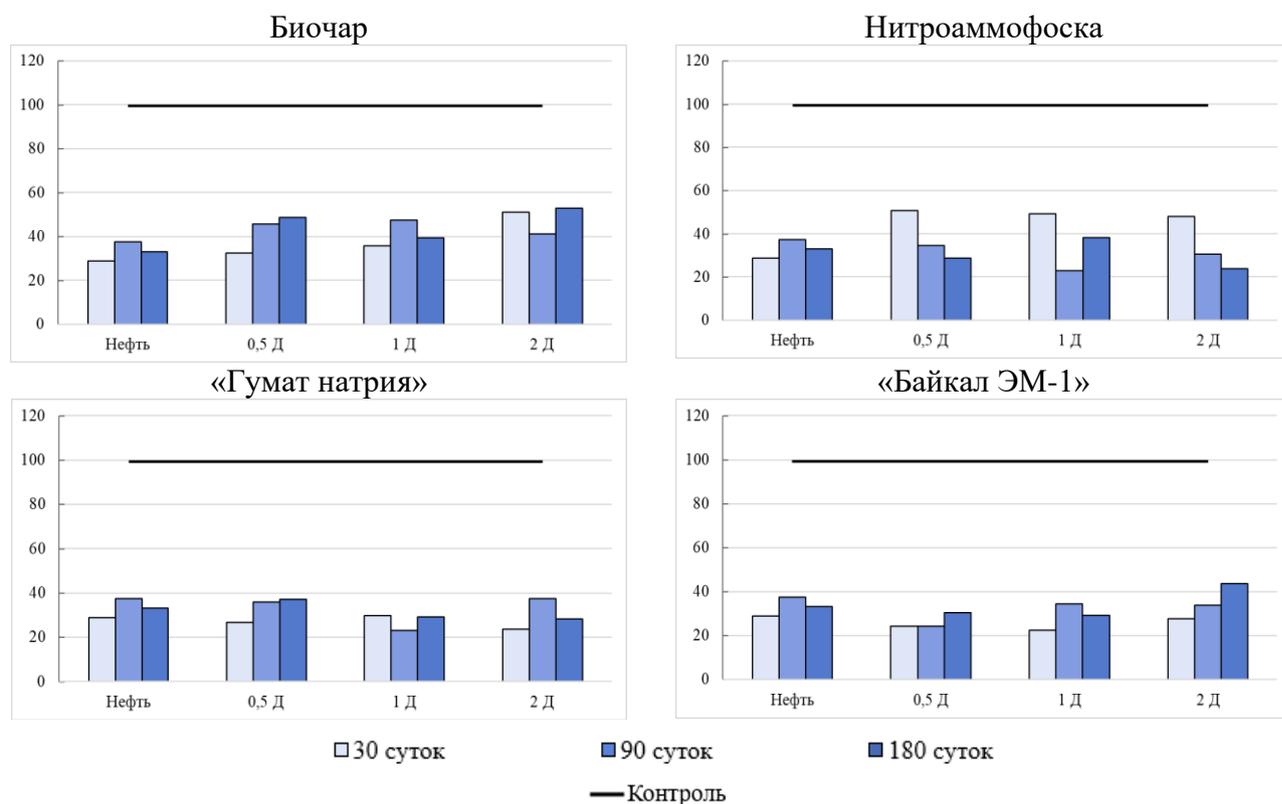


Рисунок 22 – ИПБС нефтезагрязненного чернозема обыкновенного при внесении ремедиантов, % от контроля

На основании показателей, представленных на рисунках 9–13 и 18, также был рассчитан интегральный показатель биологического состояния почвы (рис. 22). Наибольшее снижение ИПБС в загрязненном черноземе отмечено именно к 30 суткам. Данное явление можно объяснить тем, что на 30 сутки максимально выраженными являются токсические свойства загрязнителя в почвах, а уже по истечении 90 суток в почвах начинаются естественные процессы восстановления (Кутузова и др., 2014).

Ремедиация чернозема обыкновенного способствовала повышению показателя на 30-е сутки при использовании биочара и нитроаммофоски во всех дозах, а также 1 Д «Гумат натрия». В среднем по трем дозам нитроаммофоска повышает ИПБС на 71%, а биочар на 38% относительно почвы только с загрязнителем. При этом самой действенной оказалась 2 Д биочара. На 90 сутки только биочар повысил значение показателя в среднем на 20%, а наиболее

эффективной его дозой была 1 Д. По истечении 180 суток ИПБС увеличился в образцах с биочаром на 42%. Наиболее эффективной была доза 2 ремедианта. Также повышению показателя на данном сроке способствовали 1 Д нитроаммофоски, 0,5 Д «Гумат натрия» и 2 Д «Байкал ЭМ-1».

Таким образом, более высокие значения показателей в почвах с ремедиантом и загрязнителем были чаще отмечены на 90-е и 180-е сутки. Однако в эти 2 срока наблюдаются и более высокие значения в черноземе только с нефтью. Сравнение значений ИПБС на разных сроках позволяет сделать вывод о большей эффективности применения ремедиантов именно на 30-е сутки.

Полученные значения ИПБС использовали для оценки чувствительности биологических показателей на каждом сроке ремедиации. По чувствительности биологических показателей при ремедиации загрязнения нефтью в среднем по трем срокам были составлены следующие ряды из показателей.

При внесении биочара ряд имеет вид: *длина корней* > *длина побегов* > *всхожесть* > *численность бактерий* > *активность дегидрогеназ* > *активность каталазы*.

При внесении нитроаммофоски показатели образуют ряд: *длина корней* > *длина побегов* > *всхожесть* > *численность бактерий* > *активность каталазы* > *активность дегидрогеназ*.

При использовании «Гумат натрия» ряд имеет вид: *длина корней* > *длина побегов* > *всхожесть* > *численность бактерий* > *активность дегидрогеназ* = *активность каталазы*.

В образцах с «Байкал ЭМ-1» показатели образуют следующую последовательность: *длина корней* > *длина побегов* > *всхожесть* > *численность бактерий* > *активность каталазы* > *активность дегидрогеназ*.

Во всех вариантах наибольшая чувствительность установлена для длины корней редиса, а наименьшая для активности ферментов (каталазы или дегидрогеназ).

По истечении 30, 90 и 180 суток модельных экспериментов в черноземе обыкновенном также определяли остаточное содержание нефти. За 100% для каждого срока было принято содержание нефти в почве на 30-е, 90-е и 180-е сутки эксперимента соответственно в образцах без ремедиантов (рис. 23–25).

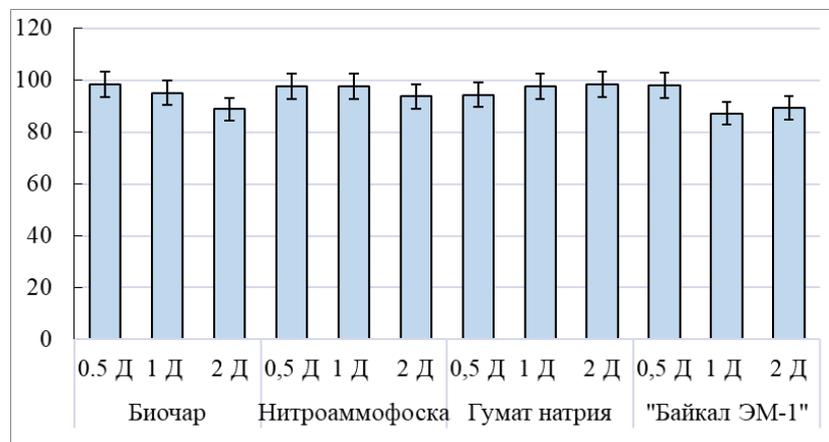


Рисунок 23 – Степень снижения содержания нефти в черноземе обыкновенном через 30 суток после загрязнения и внесения ремедиантов, % от содержания нефти в почве без ремедиантов

Результаты исследования показали, что внесение ремедиантов в загрязненный чернозем приводит к увеличению степени снижения количества нефти после 30 суток ремедиации на 5%, после 90 суток – на 10%, а после 180 суток – на 17% в среднем по трем дозам. На 30 сутки после ремедиации наиболее значительному достоверному повышению степени снижения нефти способствовала двойная доза (2 Д) биочара (на 13% по сравнению с образцами без ремедиантов). На втором месте по эффективности оказались рекомендуемая и двойная дозы «Байкал ЭМ-1» (на 11% для каждой из доз). На 30-е сутки на основании эффективности снижения содержания нефти в черноземе обыкновенном изучаемые ремедианты можно представить в виде ряда (от наиболее к наименее эффективному): *биочар* > *«Байкал ЭМ-1»* > *нитроаммофоска* > *«Гумат натрия»*.

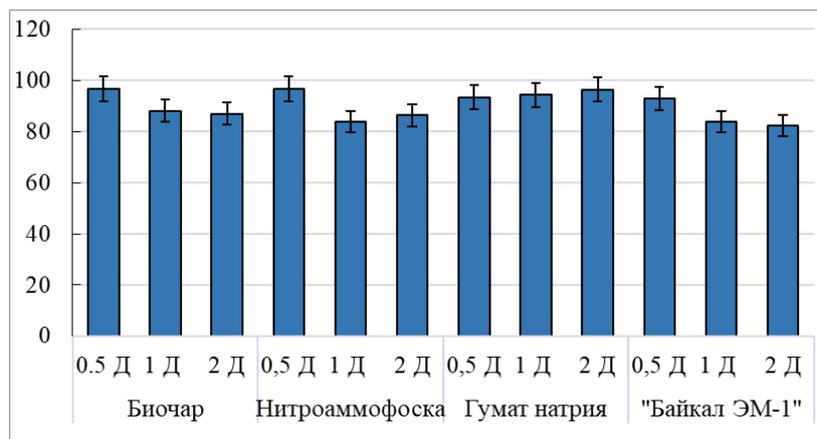


Рисунок 24 – Степень снижения содержания нефти в черноземе обыкновенном через 90 суток после загрязнения и внесения ремедиантов, % от содержания нефти в почве без ремедиантов

После 90 суток ремедиации наибольшая эффективность для снижения нефти в черноземе обыкновенном отмечена для «Байкал ЭМ-1» во всех дозах, а также для нитроаммофоски и биочара в дозах 1 и 2. При внесении бактериального препарата наблюдается снижение показателя для 0,5, 1 и 2 Д на 7, 16 и 18%, после внесения 1 и 2 Д нитроаммофоски – на 16 и 14%, а при внесении 1 и 2 Д биочара на – 12 и 13% соответственно относительно концентрации нефти на 90-е сутки в образцах без ремедиантов.

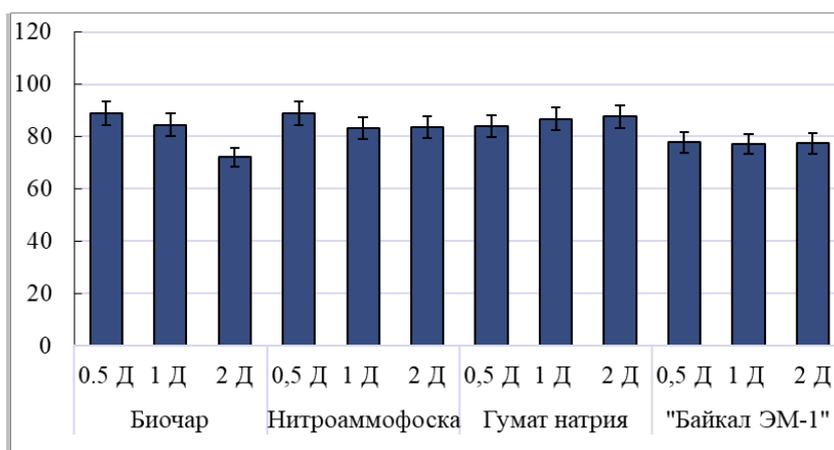


Рисунок 25 – Степень снижения содержания нефти в черноземе обыкновенном через 180 суток после загрязнения и внесения ремедиантов, % от содержания нефти в почве без ремедиантов

После 180 суток ремедиации было установлено, что в наибольшей степени снижению содержания нефти способствует нитроаммофоска в двойной дозе – на 28%, а также рекомендуемая и двойная дозы «Байкал ЭМ-1» – на 23% в обоих вариантах. На основании степени эффективности снижения содержания нефти в черноземе обыкновенном в среднем по всем срокам (30, 90 и 180 суток) ремедианты представляют ряд (от наиболее к наименее эффективному): «Байкал ЭМ-1» > биочар > нитроаммофоска > «Гумат натрия».

Невысокая интенсивность снижения содержания нефти в черноземе обыкновенном на всех изучаемых сроках может быть вызвана относительно невысокими сроками модельных экспериментов и небольшой концентрацией нефти, в результате чего биохимические процессы осуществляются не в полной мере. Подобная тенденция отмечается также и в исследованиях других авторов (Сулейманов, Шорина, 2012; Минникова, 2018).

В таблицах 21–28 представлены результаты изучения физических и химических показателей чернозема обыкновенного на разных сроках.

Таблица 21

Изменение физических и химических показателей чернозема обыкновенного через 90 суток после внесения ремедиантов

Образцы	Дозы	pH	Общее содержание легкорастворимых солей, ppm	Окислительно-восстановительный потенциал, мВ
Контроль		7,4±0,02	96,7±1,5	285,5±3,8
Биочар	0.5 Д	7,5±0,01	123,8±3,8	289,0±1,7
	1 Д	7,7±0,01	80,8±0,9	283,0±1,2
	2 Д	7,8±0,01	100,4±4,3	277,5±1,4
Нитроаммофоска	0.5 Д	6,5±0,03	360,8±5,4	312,5±4,9
	1 Д	6,2±0,01	533,6±0,9	341,5±3,2
	2 Д	6,2±0,01	693,1±9,5	346,5±0,3
«Гумат натрия»	0.5 Д	7,4±0,01	109,7±4,3	322,0±0,6
	1 Д	7,4±0,01	90,7±1,4	314,5±0,3
	2 Д	7,4±0,01	95,2±0,6	305,5±0,9
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	7,4±0,00	125,2±2,4	305,5±0,9
	1 Д	7,5±0,01	94,7±3,0	299,0±0,6
	2 Д	7,5±0,01	103,2±1,5	299,5±0,9

Изменение физических и химических показателей чернозема обыкновенного  
через 90 суток после внесения нефти и ремедиантов

Образцы	Дозы	pH	Общее содержание легкорастворимых солей, ppm	Окислительно- восстановительный потенциал, мВ
Нефть		7,6±0,01	62±2,9	294±0,6
Биочар	0.5 Д	7,5±0,01	97±2,0	293±0,6
	1 Д	7,6±0,01	114±1,2	287±1,4
	2 Д	7,7±0,01	118±2,3	281±0,6
Нитроаммофоска	0.5 Д	7,2±0,01	264±5,4	286±0,9
	1 Д	6,7±0,02	350±11,8	285±0,9
	2 Д	6,8±0,01	562±3,5	275±0,6
«Гумат натрия»	0.5 Д	7,4±0,01	93±6,6	283±2,3
	1 Д	7,6±0,03	71±6,4	290±0,6
	2 Д	7,5±0,01	80±0,3	288±0,3
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	7,7±0,01	66±1,0	284±0,6
	1 Д	7,7±0,01	64±4,8	284±0,6
	2 Д	7,6±0,01	65±0,3	284±1,2

Таблица 23

Изменение физических и химических показателей чернозема обыкновенного  
через 180 суток после внесения ремедиантов

Образцы	Дозы	pH	Общее содержание легкорастворимых солей, ppm	Окислительно- восстановительный потенциал, мВ
Нефть		6,9±0,03	95,0±0,6	315,5±2,6
Биочар	0.5 Д	7,3±0,01	214,0±1,7	370,5±3,8
	1 Д	6,7±0,02	245,0±0,0	332,0±5,8
	2 Д	6,2±0,06	289,0±9,8	347,5±4,3
Нитроаммофоска	0.5 Д	5,4±0,04	600,0±13,3	360,0±2,3
	1 Д	5,1±0,18	1031,5±11,3	394,0±0,6
	2 Д	6,9±0,10	1309,5±7,2	409,5±1,4
«Гумат натрия»	0.5 Д	6,7±0,03	312,5±1,4	382,0±0,6
	1 Д	7,0±0,01	273,5±2,6	350,5±1,4
	2 Д	6,7±0,09	315,5±3,2	356,5±4,3
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	6,9±0,03	239,0±6,9	366,0±1,2
	1 Д	7,1±0,03	280,0±0,6	343,0±1,7
	2 Д	7,3±0,03	346,0±2,3	342,5±2,0

Изменение физических и химических показателей чернозема обыкновенного  
через 180 суток после внесения нефти и ремедиантов

Образцы	Дозы	pH	Общее содержание легкорастворимых солей, ppm	Окислительно- восстановительный потенциал, мВ
Нефть		7,4±0,01	78±6,1	369±3,8
Биочар	0.5 Д	6,8±0,02	183±1,4	363±9,8
	1 Д	7,3±0,03	246±7,7	335±0,6
	2 Д	7,0±0,08	218±7,2	341±3,8
Нитроаммофоска	0.5 Д	6,7±0,01	355±4,0	316±0,3
	1 Д	6,6±0,02	450±11,0	355±4,9
	2 Д	5,9±0,00	996±11,8	337±4,3
«Гумат натрия»	0.5 Д	6,9±0,07	115±1,7	347±3,2
	1 Д	7,1±0,02	84±0,6	333±1,7
	2 Д	7,7±0,08	94±1,2	327±0,3
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	7,3±0,02	88±1,7	360±2,9
	1 Д	7,2±0,03	69±4,0	344±1,7
	2 Д	7,5±0,16	85±2,6	339±0,3

Исследование показало, что увеличение срока ремедиации не оказывает существенного влияния на pH, ОВП и содержание солей в черноземе обыкновенном.

Согласно результатам теста WDPT, на сроках 90 и 180 суток наблюдается некоторое повышение значений гидрофобности относительно 30-х суток, что может быть связано с уплотнением почвы в результате более длительных сроков экспериментов (табл. 26–29).

Изменение гидрофобности чернозема (тесты EP и WDPT) обыкновенного через 90 суток после внесения ремедиантов, сек.

Образцы	Дозы	процент содержания спирта в растворе						
		0	5	10	15	25	30	35
Контроль		1	1	2	1	1	1	1
Биочар	0.5 Д	1	1	2	1	1	1	1
	1 Д	2	2	2	1	1	2	1
	2 Д	3	2	2	1	1	1	1
Нитроаммофоска	0.5 Д	2	2	2	2	2	1	1
	1 Д	3	2	2	1	2	2	1
	2 Д	2	2	1	1	1	1	1
«Гумат натрия»	0.5 Д	2	2	2	1	1	1	1
	1 Д	1	1	1	1	1	1	1
	2 Д	2	2	1	1	1	1	1
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	2	2	1	1	1	1	1
	1 Д	1	1	1	1	1	1	1
	2 Д	2	1	1	1	1	1	1

Изменение гидрофобности чернозема (тесты EP и WDPT) обыкновенного через 90 суток после внесения нефти и ремедиантов, сек.

Образцы	Дозы	процент содержания спирта в растворе						
		0	5	10	15	25	30	35
Нефть		15	13	13	12	11	6	4
Биочар	0.5 Д	12	11	11	10	8	7	5
	1 Д	11	11	10	9	9	7	5
	2 Д	12	12	10	9	8	4	4
Нитроаммофоска	0.5 Д	14	12	10	9	9	9	8
	1 Д	13	12	10	9	8	6	6
	2 Д	14	10	9	9	8	6	4
«Гумат натрия»	0.5 Д	14	13	9	9	9	9	8
	1 Д	14	14	9	9	8	7	7
	2 Д	11	10	9	8	8	7	6
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	10	9	9	9	8	8	8
	1 Д	10	9	8	9	8	8	4
	2 Д	9	9	8	8	8	4	4

Изменение гидрофобности чернозема (тесты EP и WDPT) обыкновенного через 180 суток после внесения ремедиантов, сек.

Образцы	Дозы	процент содержания спирта в растворе						
		0	5	10	15	25	30	35
Контроль		2	2	2	2	1	2	1
Биочар	0.5 Д	2	2	2	2	2	1	1
	1 Д	2	2	2	2	2	2	2
	2 Д	3	3	2	2	2	1	1
Нитроаммофоска	0.5 Д	3	3	3	3	3	2	1
	1 Д	3	2	2	2	2	1	1
	2 Д	3	2	2	2	1	1	1
«Гумат натрия»	0.5 Д	2	2	2	2	2	2	1
	1 Д	2	2	2	2	2	2	1
	2 Д	3	2	2	2	2	1	1
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	3	2	2	2	2	1	1
	1 Д	3	2	2	2	2	1	1
	2 Д	3	2	2	2	2	1	1

Таблица 28

Изменение гидрофобности чернозема (тесты EP и WDPT) обыкновенного через 180 суток после внесения нефти и ремедиантов, сек.

Образцы	Дозы	процент содержания спирта в растворе						
		0	5	10	15	25	30	35
Нефть		14	13	12	12	8	9	4
Биочар	0.5 Д	12	12	11	9	6	9	5
	1 Д	10	10	8	8	7	4	4
	2 Д	8	8	7	7	4	4	4
Нитроаммофоска	0.5 Д	14	13	11	9	7	7	7
	1 Д	13	12	11	8	4	6	6
	2 Д	12	11	9	6	6	6	4
«Гумат натрия»	0.5 Д	14	12	9	9	9	8	7
	1 Д	12	13	9	9	9	7	6
	2 Д	12	9	9	8	9	6	5
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	9	10	4	9	9	4	4
	1 Д	9	9	9	8	4	4	3
	2 Д	8	8	8	4	4	4	3

На 30-е сутки самыми эффективными ремедиантами оказались «Байкал ЭМ-1» и «Гумат натрия», на 90-е и 180-е – «Байкал ЭМ-1» и биочар. В целом в

наибольшей степени на всех изучаемых сроках гидрофобность снижают все дозы «Байкал ЭМ-1». Также как и в случае с незагрязненными образцами, при внесении нефти на 90-е сутки значения показателя в незначительной степени повышаются, при этом уже на 180-е сутки отмечается тенденция к снижению, что, возможно, связано с более существенным уменьшением содержания углеводов нефти в черноземе на данном сроке. Использование ремедиантов способствует снижению гидрофобности загрязненной нефтью чернозема обыкновенного через 30 суток эксперимента на 25–50%.

Тест Ethanol Percentage (EP) является косвенным показателем поверхностного натяжения почвы и указывает на интенсивность ее водоотталкивающих свойств (Badia et al. 2013). Результаты данного теста показали, что интенсивность гидрофобности при нефтезагрязнении снижается с повышением концентрации этанола в растворе.

Рядом исследований была установлена прямая значимая корреляция тестов WDPT и EP (Badia et al. 2013; Harper, Gilkes 1994). На основании коэффициента ранговых корреляций Спирмена, в нашем исследовании также была установлена прямая сильная связь значений изучаемых тестов на всех сроках модельных экспериментов. На 30-е сутки коэффициент ( $r$ ) составил 0,90, на 90-е сутки –  $r=0,88$ , на 180-е сутки –  $r=0,89$  (при  $p < 0.05$ ).

### **3.3. Влияние ремедиантов на экологическое состояние чернозема обыкновенного при загрязнении нефтью в разных концентрациях**

В предыдущих двух экспериментах биочар в наибольшей степени стимулировал биологические показатели чернозема, именно поэтому в данном эксперименте его вносили в почву при всех уровнях загрязнения нефтью. При этом нитроаммофоску использовали при концентрациях загрязнителя 10–50%, «Гумат натрия» – при концентрациях 1–5%, а «Байкал ЭМ-1» – при концентрациях 0,1–0,5% (рис. 26–32, табл. 29–30). В данном случае наша гипотеза

заклучалась в том, что «Байкал ЭМ-1», как микробиологический препарат, и «Гумат натрия», как стимулятор аборигенной почвенной микробиоты, будут более эффективными на более низких концентрациях нефти, а нитроаммофоска, которую вносили для восполнения равновесия между углеродом и азотом в почве, – на более высоких. Все ремедианты использовали в рекомендуемой дозе.

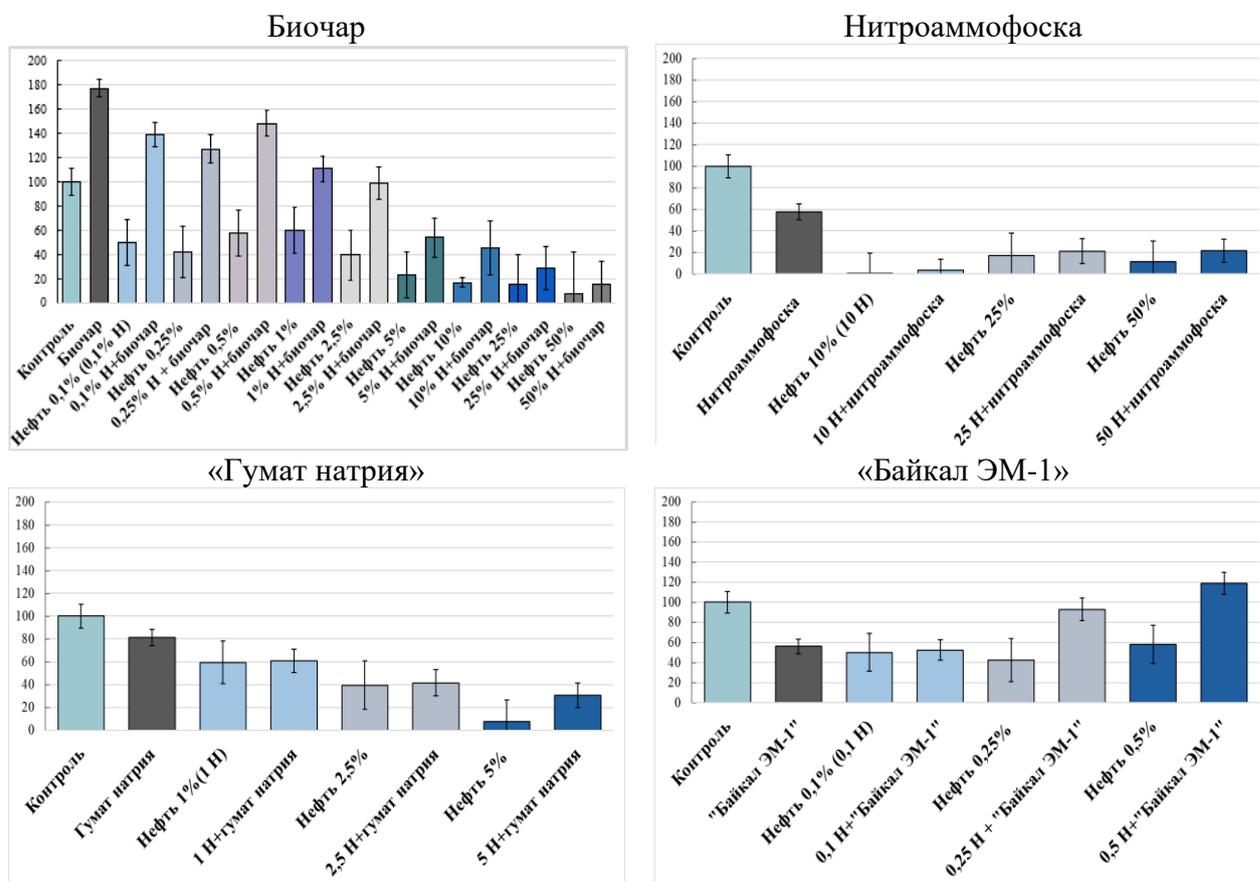


Рисунок 26 – Длина корней редиса в черноземе обыкновенном при загрязнении разными концентрациями нефти и внесении ремедиантов, % от контроля

Изучение биологических показателей в черноземе, загрязненном разными концентрациями нефти при внесении ремедиантов показало, что биочар способствует их стимуляции в большинстве вариантов. При этом наиболее значительные достоверные изменения происходят в длине корней редиса (рис. 26). Значительные изменения длины корней при загрязнении почвы нефтью, а также при внесении биочара, можно объяснить тем, что именно эта часть

растения находится в почве, непосредственно контактирует с вносимыми веществами и сильнее подвержена их воздействию, чем другие части растения. А.С. Чердаковой и С.В. Гальченко (2020) в исследовании фитотоксичности почв при микробиологической ремедиации была отмечена подобная ситуация, но на других культурах. В качестве тест-объектов в работе использовали овес посевной (*Avena sativa* L.) и редьку масличную (*Brassica rapa* L.).

Длину побегов редиса в наибольшей степени стимулирует биочар и «Байкал ЭМ-1», а всхожесть – достоверно повышает биочар на концентрациях нефти от 0,1 до 2,5% и «Байкал ЭМ-1» на концентрации 0,25% от массы почвы относительно образцов только с нефтью (рис. 27).

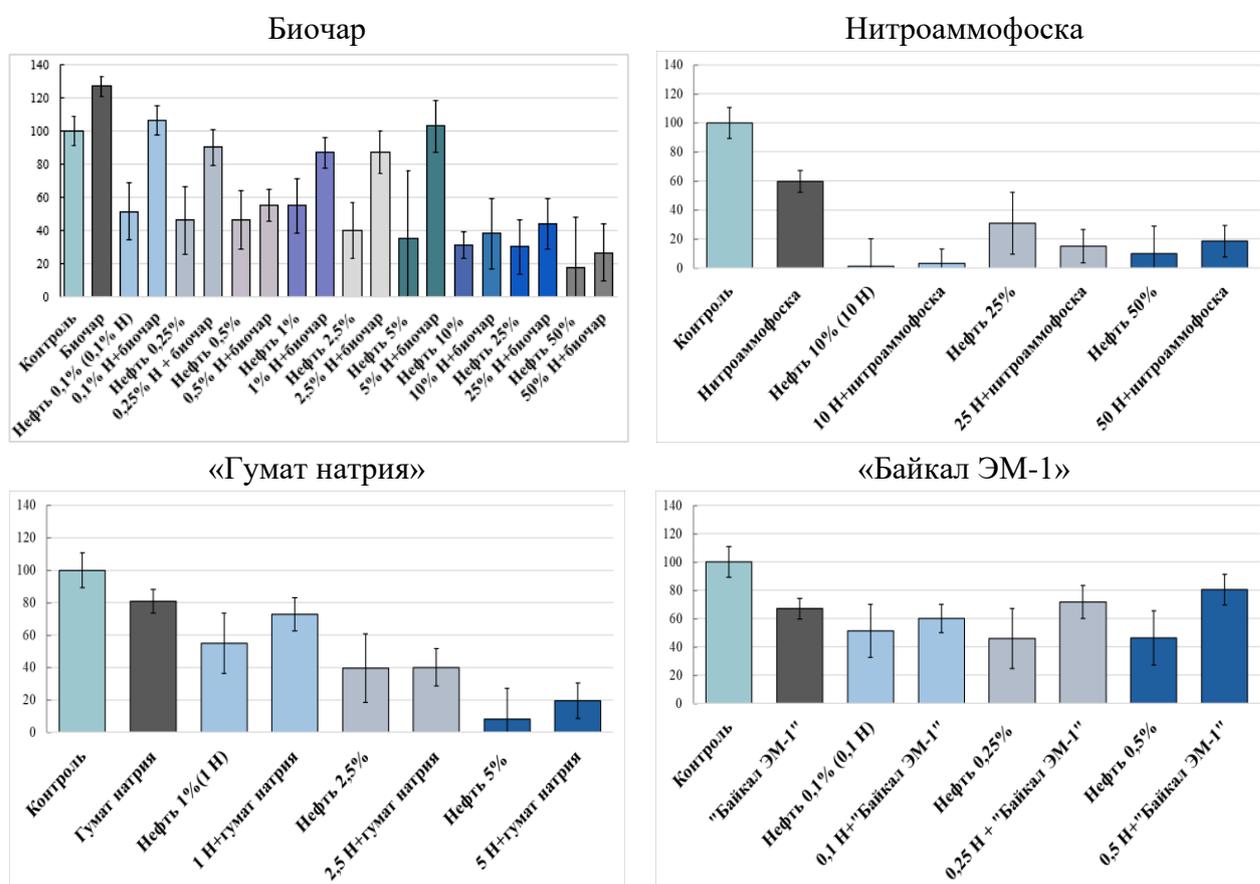


Рисунок 27 – Длина побегов редиса в черноземе обыкновенном при загрязнении разными концентрациями нефти и внесении ремедиантов, % от контроля

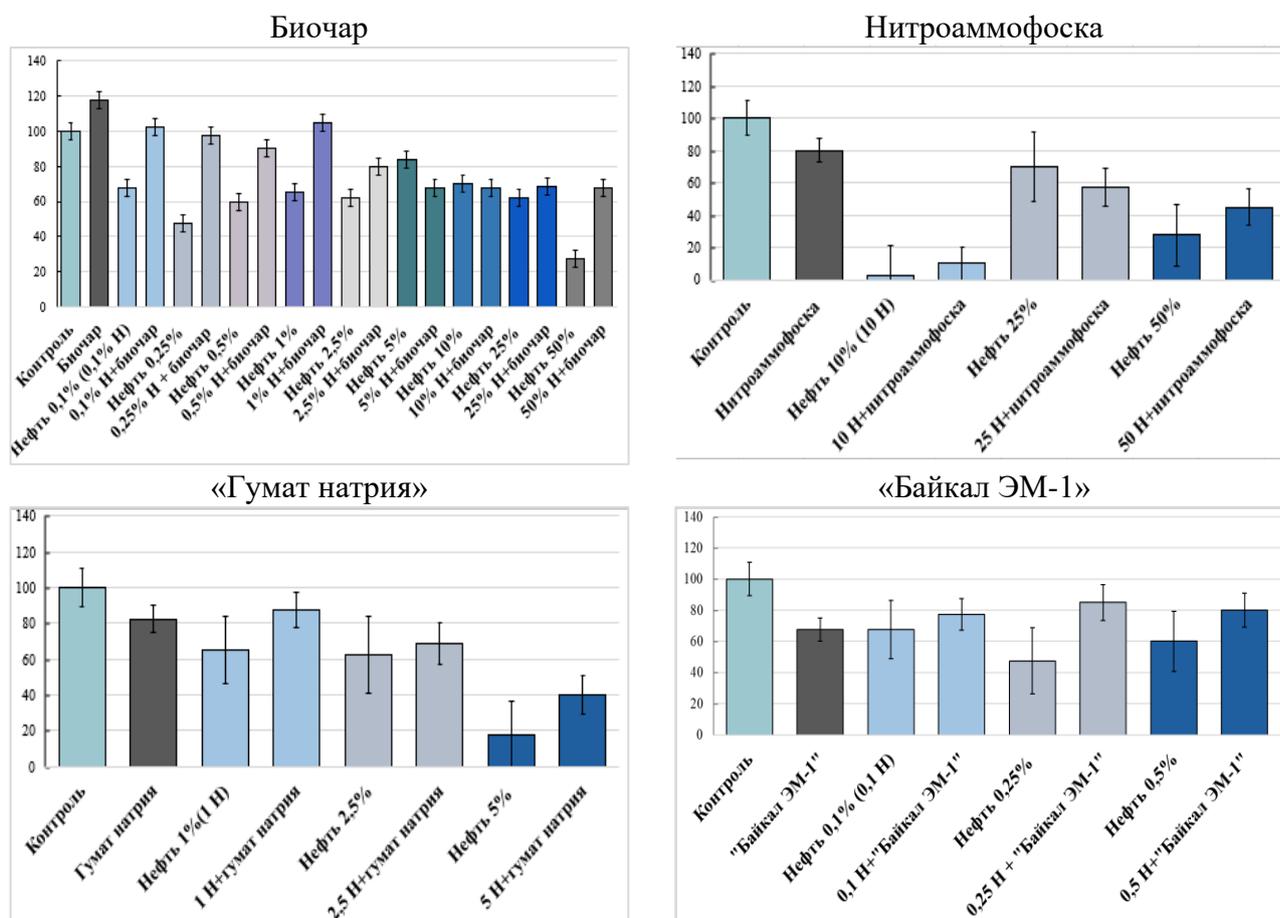


Рисунок 28 – Всхожесть семян редиса в черноземе обыкновенном при загрязнении разными концентрациями нефти и внесении ремедиантов, % от контроля

Достоверного повышения активности каталазы при внесении ремедиантов в нефтезагрязненный чернозем обыкновенный не происходит, кроме варианта с концентрацией нефти 2,5% и биочаром (рис. 29).

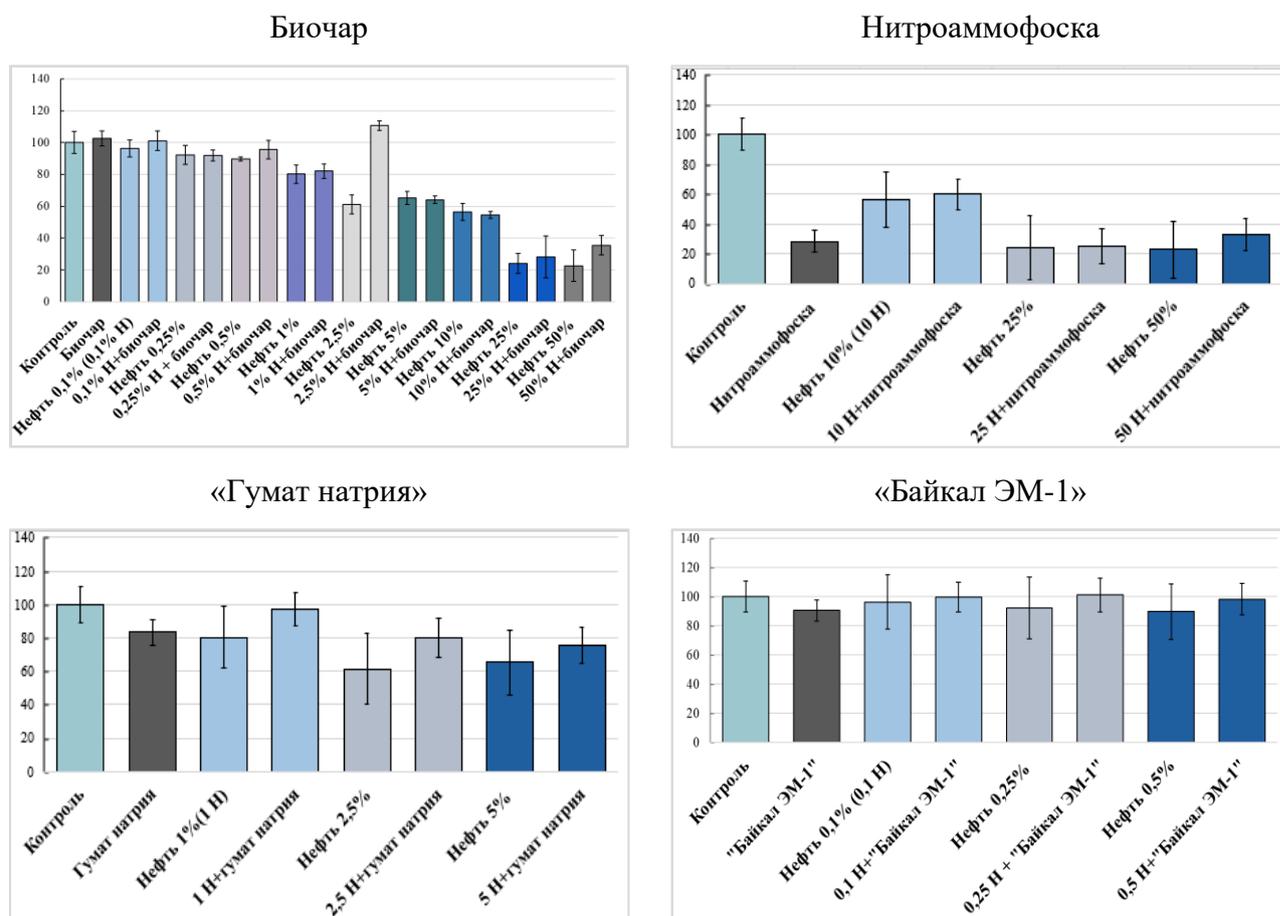


Рисунок 29 – Активность каталазы в черноземе обыкновенном при загрязнении разными концентрациями нефти и внесении ремедиантов, % от контроля

Достоверному повышению активности дегидрогеназ в черноземе обыкновенном способствует «Гумат натрия» при концентрации нефти 2,5%, нитроаммофоска при концентрации 25% и биочар при концентрациях 0,25–25% от массы почвы (рис. 30).

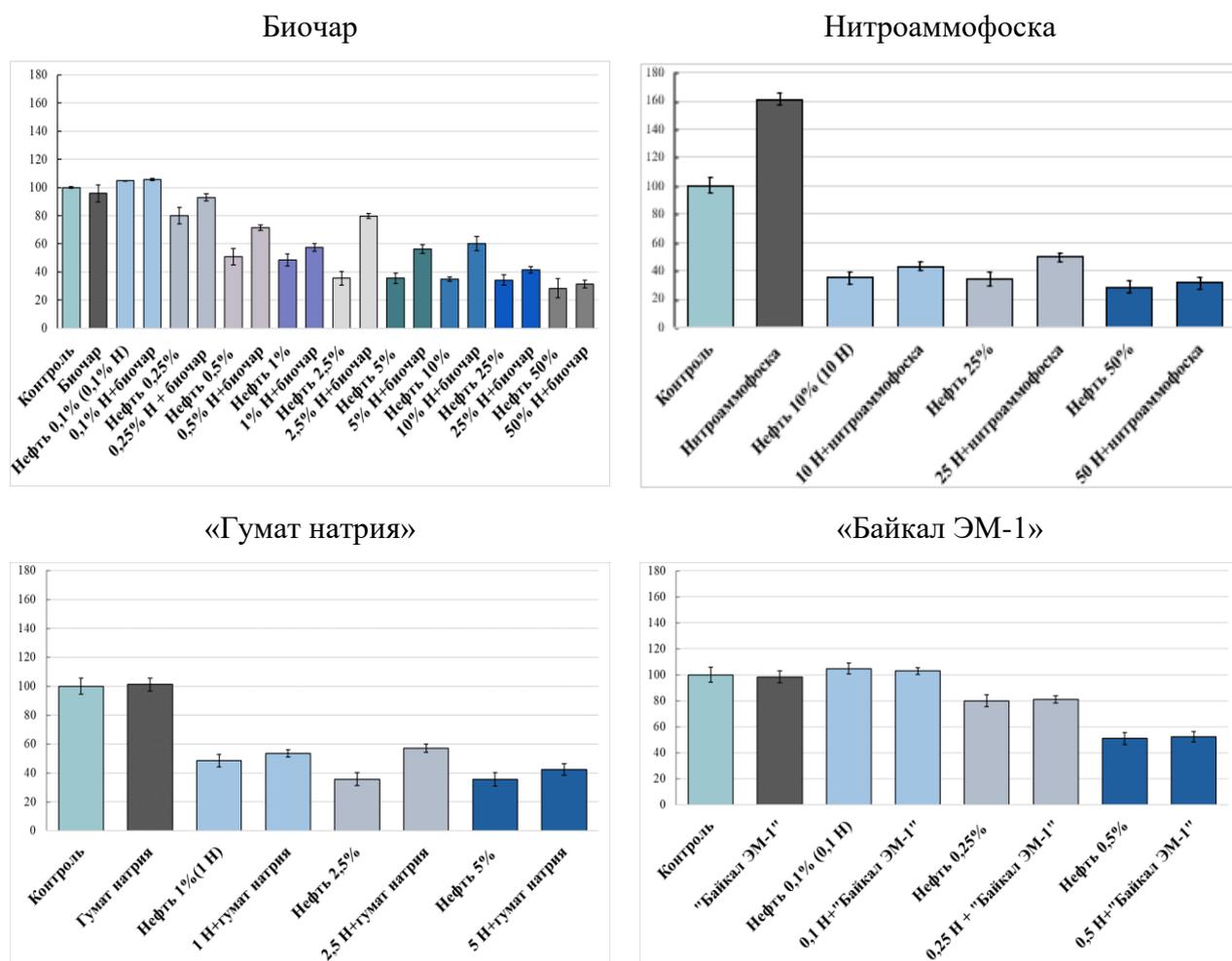


Рисунок 30 – Активность дегидрогеназ в черноземе обыкновенном при загрязнении разными концентрациями нефти и внесении ремедиантов, % от контроля

При внесении всех изучаемых ремедиантов на всех концентрациях нефти происходит повышение общей численности бактерий в черноземе обыкновенном. При этом достоверное увеличение показателя при использовании «Байкал ЭМ-1» на концентрациях 0,5% и биочара на большинстве изучаемых концентраций (рис. 31).

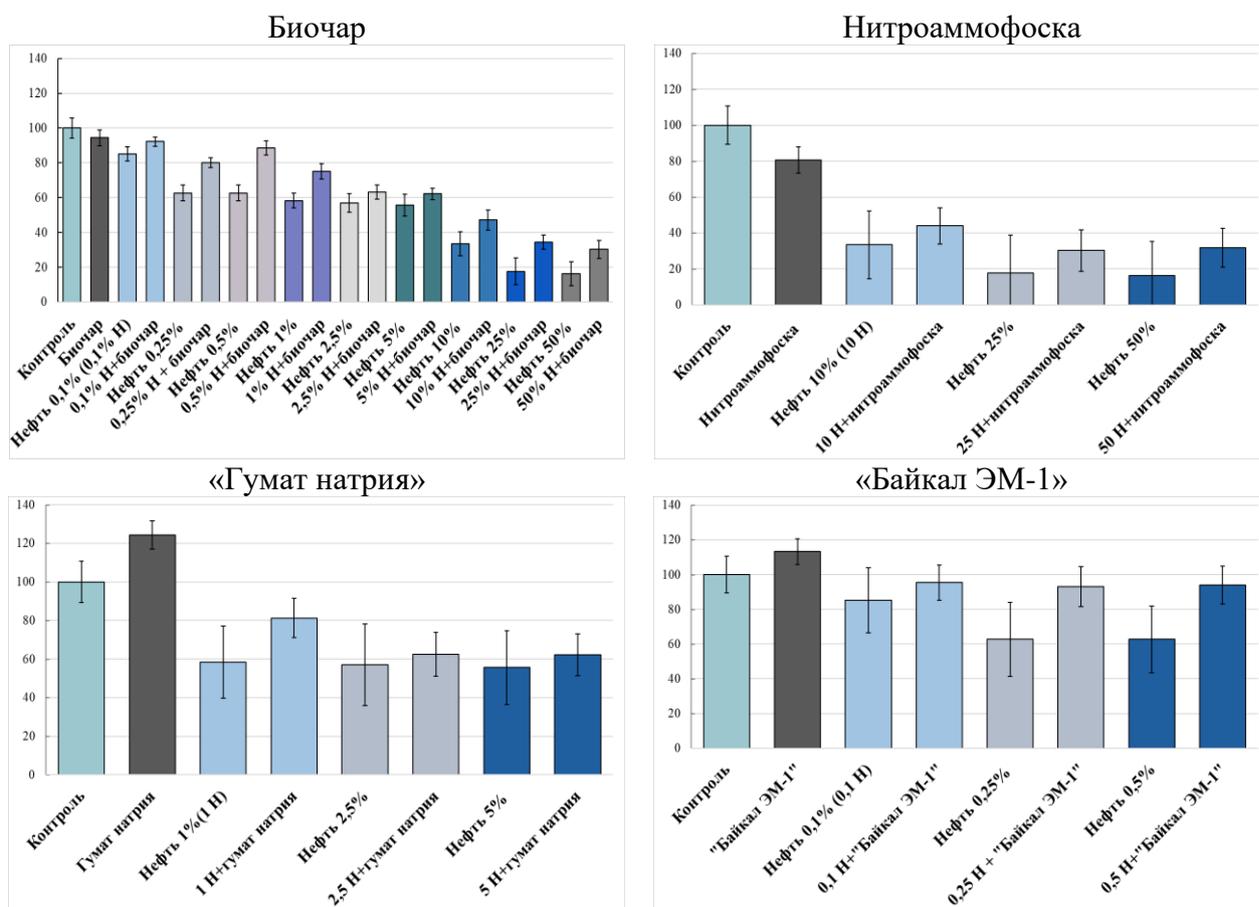


Рисунок 31 – Общая численность бактерий в черноземе обыкновенном при загрязнении разными концентрациями нефти и внесении ремедиантов, % от контроля

Согласно интегральному показателю биологического состояния почв, при загрязнении чернозема разными концентрациями нефти биочар оказался самым эффективным стимулятором показателей во всех вариантах загрязнения (повышение на 21–79% относительно образцов только с загрязнителем). Наибольшие значения показателя при внесении биочара отмечены на концентрации нефти 10% от массы почвы (повышение на 79%), при внесении нитроаммофоски – на концентрации 50% (повышение на 56%), «Гумат натрия» – на концентрации 5% (повышение на 43%), «Байкал ЭМ-1 – на концентрации 0,5% (повышение на 43%) (рис. 30).

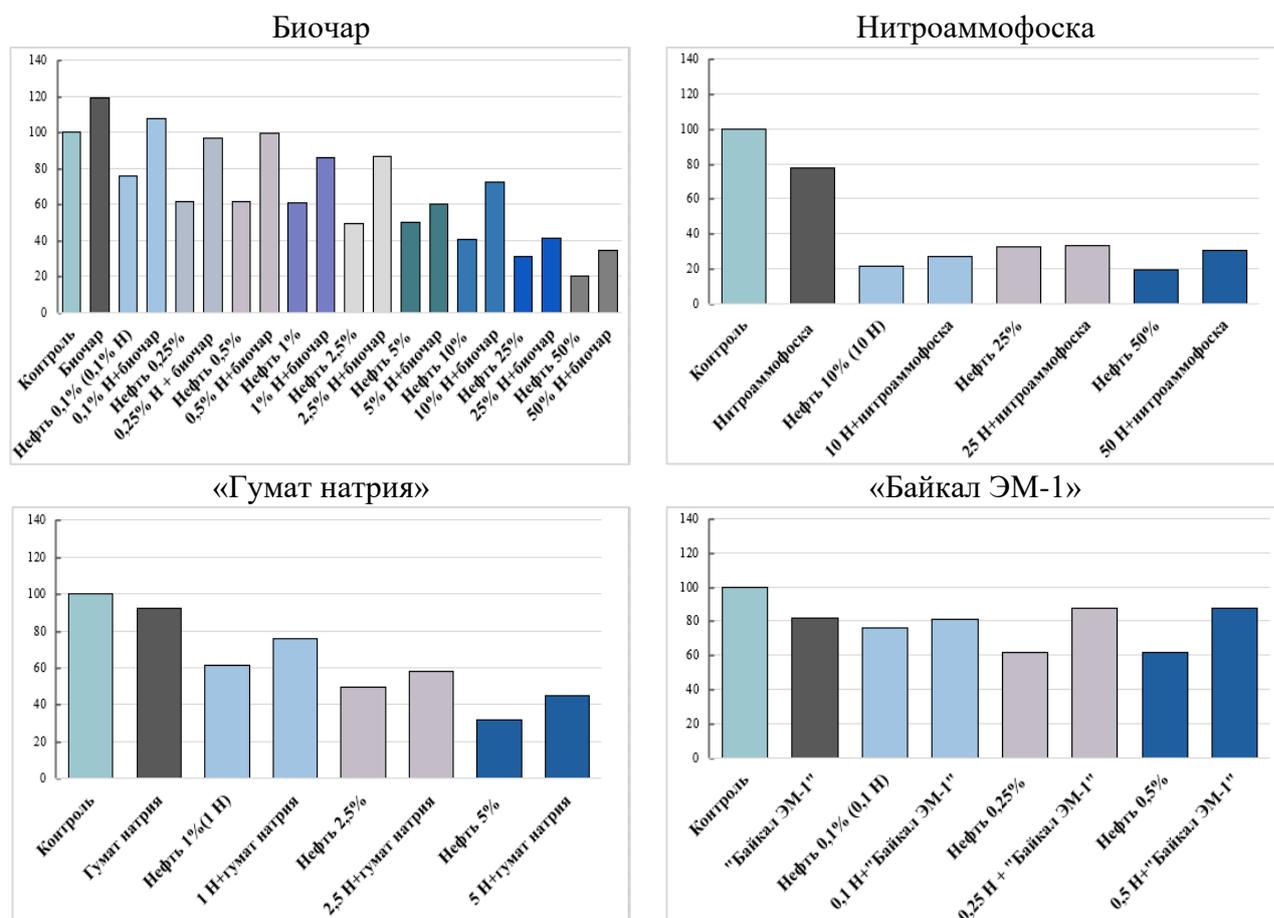


Рисунок 32 – ИПБС чернозема обыкновенного при загрязнении разными концентрациями нефти и внесении ремедиантов, % от контроля

В таблицах 29–30 представлены результаты физических и химических показателей чернозема обыкновенного при разном уровне загрязнения нефтью и внесении ремедиантов. Исследование показало, что внесение нефти в разных концентрациях и ремедиантов в черноземе обыкновенном в большинстве вариантов повышает рН, ОВП и снижает концентрацию легкорастворимых солей. В то же время внесение нитроаммофоски, напротив, снижает значения рН и повышает концентрацию солей в почве.

Изменение физических и химических показателей чернозема обыкновенного при загрязнении разными концентрациями нефти и внесении ремедиантов

Образцы	pH	Общее содержание легкорастворимых солей, ppm	Окислительно-восстановительный потенциал, мВ
Контроль	7,5±0,09	141±1,2	253±3,8
Биочар	8,0±0,00	149±2,0	263±1,4
Нитроаммофоска	6,9±0,03	555±10,9	298±4,3
«Гумат натрия»	8,0±0,02	110±4,9	289±2,3
«Байкал ЭМ-1»	8,1±0,01	108±2,3	297±1,4
Нефть 0,1% (0,1% Н)	8,2±0,00	63±5,2	294±0,9
0,1% Н + биочар	7,8±0,14	114±3,5	296±5,5
0,1% Н + «Байкал ЭМ-1»	8,1±0,01	98±0,3	300±2,3
Нефть 0,25%	7,6±0,08	77±1,4	304±1,7
0,25% Н + биочар	8,0±0,03	86±0,6	310±0,0
0,25% Н + «Байкал ЭМ-1»	8,1±0,02	75±3,2	311±1,2
Нефть 0,5%	8,1±0,01	70±4,9	314±1,4
0,5% Н + биочар	8,1±0,03	102±0,9	314±1,2
0,5% Н + «Байкал ЭМ-1»	7,8±0,06	95±1,2	308±3,2
Нефть 1%	8,1±0,02	86±2,0	316±1,7
1% Н + биочар	8,1±0,03	86±1,4	322±0,3
1% Н + «Гумат натрия»	8,2±0,03	153±3,5	276±0,9
Нефть 2,5%	8,0±0,01	111±2,0	290±3,2
2,5% Н + биочар	8,1±0,01	171±1,2	299±3,2
2,5% Н + «Гумат натрия»	8,2±0,01	95±3,5	300±4,6
Нефть 5%	8,2±0,00	67±0,3	302±0,6
5% Н + биочар	8,2±0,03	106±0,9	299±2,9
5% Н + «Гумат натрия»	8,0±0,02	73±3,5	309±1,2
Нефть 10%	7,9±0,01	43±3,5	316±3,2
10% Н + биочар	7,8±0,01	48±0,6	316±2,2
10% Н + нитроаммофоска	7,1±0,10	458±0,6	318±2,2
Нефть 25%	7,7±0,01	77±2,3	306±3,5
25% Н + биочар	6,9±0,01	65±1,2	312±0,6
25% Н + нитроаммофоска	7,0±0,00	438±3,2	311±0,3
Нефть 50%	7,5±0,01	60±1,7	296±4,9
50% Н + биочар	7,4±0,06	90±0,6	313±1,7
50 Н + нитроаммофоска	7,3±0,01	355±5,5	312±1,2

Изменение гидрофобности (тесты EP и WDPT) чернозема обыкновенного при загрязнении разными концентрациями нефти и внесении ремедиантов, сек.

Образцы	процент содержания спирта в растворе						
	0	5	10	15	25	30	35
Контроль	0	0	0	0	0	0	0
Биочар	3	2	2	1	1	0	0
Нитроаммофоска	0	0	0	0	0	0	0
«Гумат натрия»	1	0	0	0	0	0	0
«Байкал ЭМ-1»	0	0	0	0	0	0	0
Нефть 0,1% (0,1% Н)	1	0	0	0	0	0	0
0,1% Н + биочар	6	6	4	1	1	0	0
0,1% Н + «Байкал ЭМ-1»	0	0	0	0	0	0	0
Нефть 0,25%	1	1	0	0	0	0	0
0,25% Н + биочар	1	1	0	0	0	0	0
0,25% Н + «Байкал ЭМ-1»	1	1	1	0	0	0	0
Нефть 0,5%	4	4	3	3	0	0	0
0,5% Н + биочар	2	2	1	1	1	0	0
0,5% Н + «Байкал ЭМ-1»	1	1	1	0	0	0	0
Нефть 1%	2	1	1	0	0	0	0
1% Н + биочар	7	6	6	5	1	0	0
1% Н + «Гумат натрия»	2	1	1	1	1	1	1
Нефть 2,5%	9	7	5	2	1	0	0
2,5% Н + биочар	4	0	0	0	0	0	0
2,5% Н + «Гумат натрия»	7	7	5	2	1	1	1
Нефть 5%	123	72	56	47	27	25	4
5% Н + биочар	78	57	48	44	14	7	4
5% Н + «Гумат натрия»	105	70	50	45	18	10	2
Нефть 10%	3600	3600	3600	3600	3600	3600	3120
10% Н + биочар	3600	3600	3600	2820	2580	1440	840
10% Н + нитроаммофоска	3600	3600	3600	3340	3180	1080	960
Нефть 25%	3600	3600	3600	3600	3600	3600	3600
25% Н + биочар	3600	3600	3600	3600	3600	2800	2200
25% Н + нитроаммофоска	3600	3600	3600	3120	2640	1980	1980
Нефть 50%	3600	3600	3600	3600	3600	3600	3600
50% Н + биочар	3600	3600	3600	2800	2800	2726	2442
50 Н + нитроаммофоска	3600	3600	3600	3180	2700	1860	1860

Изучение гидрофобности в черноземе обыкновенном показало, что её степень повышается с увеличением концентрации загрязнителя, при этом класс показателя изменяется с негидрофобной на слабогидрофобную, начиная с 1% нефти от массы почвы, а на 10% почва становится очень сильногидрофобной.

Использование ремедиантов в образцах с загрязнителем эффективно только до концентрации нефти 5%.

### 3.4. Влияние биочара на экологическое состояние чернозема обыкновенного при загрязнении дизельным топливом в разных концентрациях

В данной части исследования было изучено влияние ремедиации биочаром чернозема обыкновенного при загрязнении разными концентрациями дизельного топлива (рис. 33–37, табл. 31–32).

Результаты показали, что биочар способствует достоверному повышению длины корней, побегов и всхожести при большинстве изучаемых концентраций дизельного топлива в черноземе обыкновенном (рис. 33, 34).

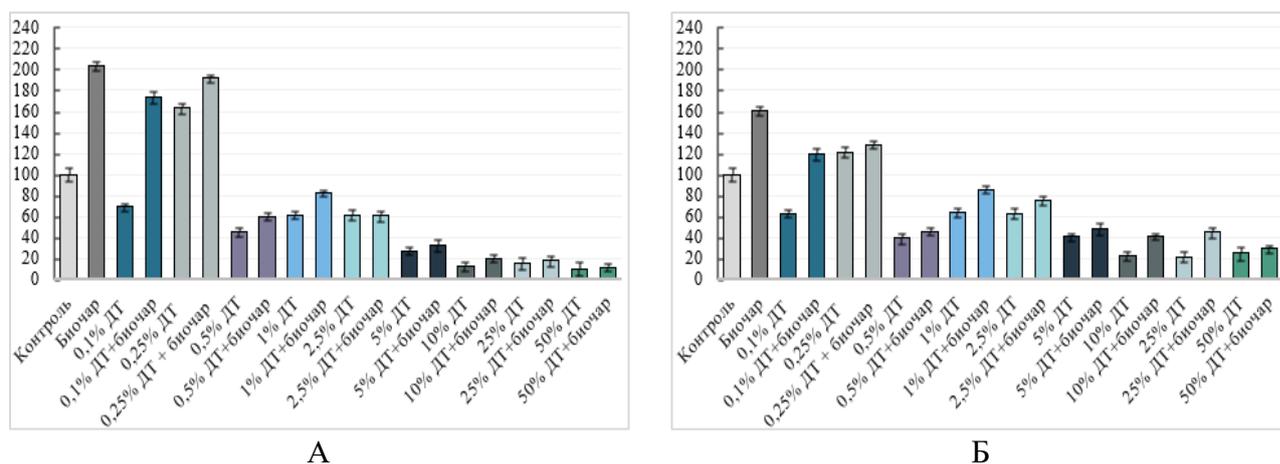


Рисунок 33 – Длина корней (А) и побегов (Б) редиса в черноземе обыкновенном при загрязнении разными концентрациями дизельного топлива и внесении биочара, % от контроля

\*Примечание: ДТ – дизельное топливо

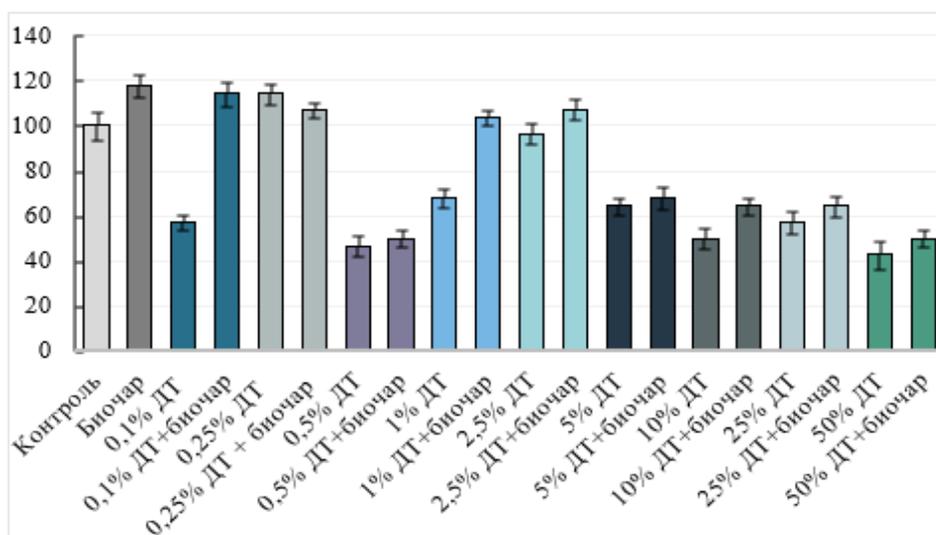
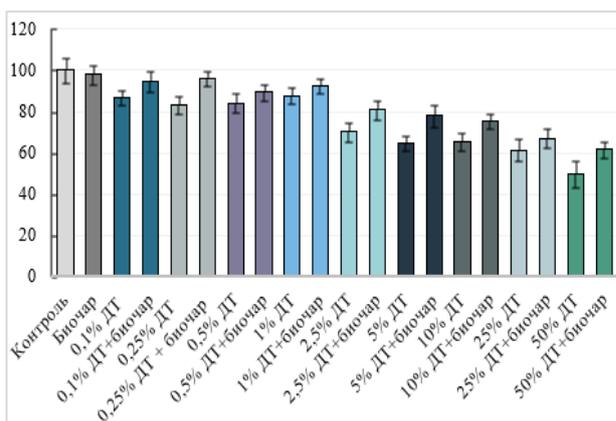


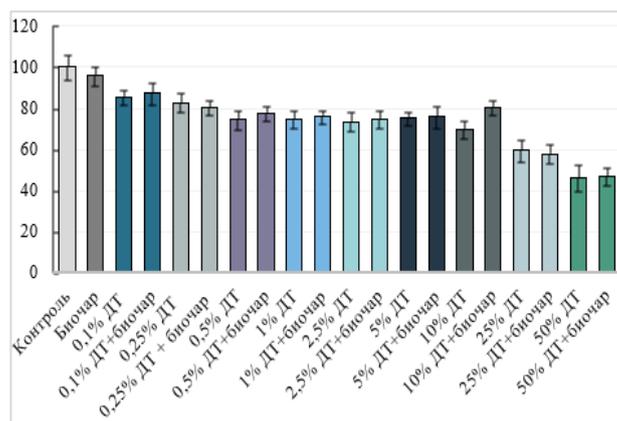
Рисунок 34 – Всхожесть семян редиса в черноземе обыкновенном при загрязнении разными концентрациями дизельного топлива и внесении биочара, % от контроля

*\*Примечание: ДТ – дизельное топливо*

Изучение активности ферментов в черноземе при загрязнении разными концентрациями дизельного топлива показало, что биочар в большей степени способствует активации каталазы, при этом активность дегидрогеназ изменяется незначительно (рис. 35).



А



Б

Рисунок 35 – Активность каталазы (А) и дегидрогеназ (Б) в черноземе обыкновенном при загрязнении разными концентрациями дизельного топлива и внесении биочара, % от контроля

*\*Примечание: ДТ – дизельное топливо*

Биочар достоверно повышает общую численность бактерий в черноземе обыкновенном при всех уровнях загрязнения дизельным топливом, при этом наибольшее повышение относительно загрязненных образцов наблюдается на максимальных концентрациях загрязняющего вещества (рис. 36).

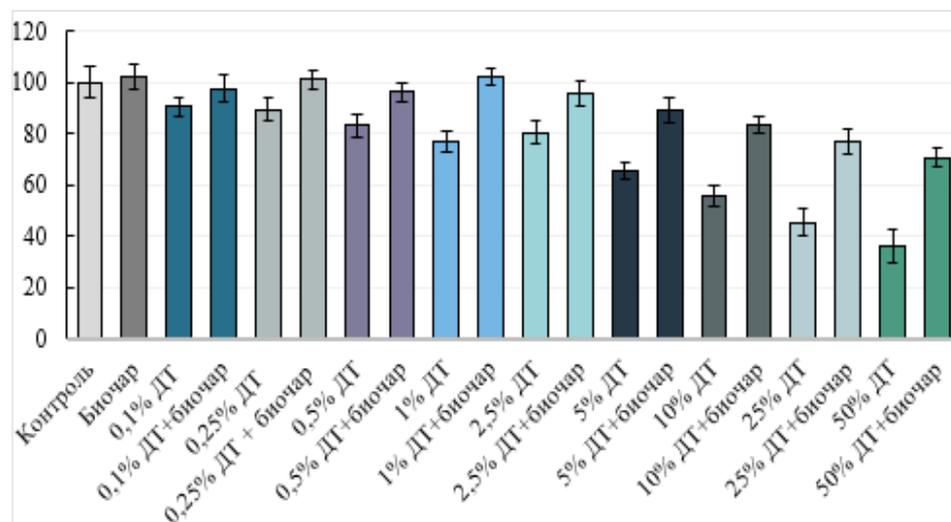


Рисунок 36 – Общая численность бактерий в черноземе обыкновенном при загрязнении разными концентрациями дизельного топлива и внесении биочара, % от контроля

*\*Примечание: ДТ – дизельное топливо*

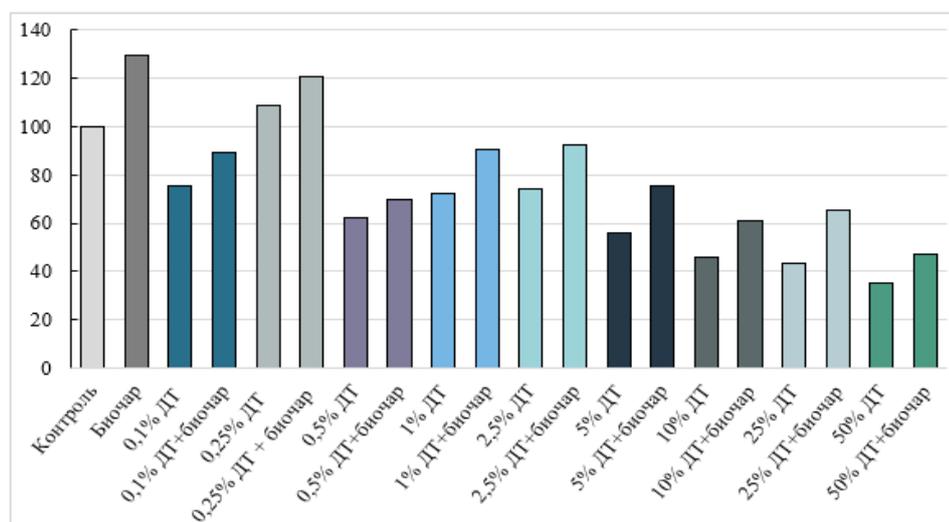


Рисунок 37 – ИПБС чернозема обыкновенного при загрязнении разными концентрациями дизельного топлива и внесении биочара, % от контроля

*\*Примечание: ДТ – дизельное топливо*

Изучение интегрального показателя биологического состояния чернозема обыкновенного показало, что при загрязнении дизельным топливом биочар повышает значения биологических показателей на 11–52% относительно образцов только с загрязнителем в любых из 9 исследованных концентраций. Наибольший стимулирующий эффект биочара отмечен на максимальных дозах загрязнителя – 25 и 50%. В данных вариантах ИПБС повышается на 52 и 34% соответственно (рис. 37).

Результаты изучения рН, содержания солей, окислительно-восстановительного потенциала и гидрофобности представлены в таблицах 31–32. Загрязнение чернозема обыкновенного разными концентрациями нефти, а также внесение биочара не оказывает существенного влияния на рН и ОВП, но снижает содержание легкорастворимых солей относительно контроля (табл. 31).

Таблица 31

Изменение физических и химических показателей чернозема обыкновенного при загрязнении разными концентрациями дизельного топлива и внесении биочара

Образцы	рН	Общее содержание легкорастворимых солей, ppm	Окислительно-восстановительный потенциал, мВ
Контроль	7,3±0,01	102±4,0	292±2,9
Биочар	7,4±0,01	62±2,6	292±3,2
Дизельное топливо 0,1% (0,1% ДТ)	7,4±0,01	61±0,9	292±0,6
0,1% ДТ + биочар	7,3±0,02	56±0,6	298±0,6
Дизельное топливо 0,25%	7,5±0,01	74±1,7	307±0,6
0,25% ДТ + биочар	7,4±0,01	40±1,4	301±0,3
Дизельное топливо 0,5%	7,6±0,01	34±2,3	291±0,6
0,5% ДТ + биочар	7,6±0,00	30±1,2	299±1,7
Дизельное топливо 1%	7,6±0,01	39±1,4	288±0,9
1% ДТ + биочар	7,5±0,01	36±2,0	305±1,2
Дизельное топливо 2,5%	7,5±0,01	27±0,3	284±4,9
2,5% ДТ + биочар	7,6±0,01	34±3,2	292±1,7
Дизельное топливо 5%	7,6±0,01	25±0,9	297±2,6
5% ДТ + биочар	7,6±0,00	19±1,7	307±2,0
Дизельное топливо 10%	7,7±0,01	32±2,0	293±1,4

10% ДТ + биочар	7,6±0,01	35±1,4	305±2,6
Дизельное топливо 25%	7,6±0,02	38±2,3	272±1,7
25% ДТ + биочар	7,4±0,05	77±4,6	286±2,0
Дизельное топливо 50%	7,8±0,01	41±0,6	282±3,5
50% ДТ + биочар	7,7±0,01	77±0,3	281±2,6

Таблица 32

Изменение гидрофобности (тесты EP и WDPT) чернозема обыкновенного при загрязнении разными концентрациями дизельного топлива и внесении биочара, сек.

Образцы	процент содержания спирта в растворе						
	0	5	10	15	25	30	35
Контроль	0	0	0	0	0	0	0
Биочар	1	0	0	0	0	0	0
Дизельное топливо 0,1% (0,1% ДТ)	2	1	0	0	0	0	0
0,1% ДТ + биочар	0	0	0	0	0	0	0
Дизельное топливо 0,25%	1	1	0	0	0	0	0
0,25% ДТ + биочар	0	0	0	0	0	0	0
Дизельное топливо 0,5%	1	0	0	0	0	0	0
0,5% ДТ + биочар	0	0	0	0	0	0	0
Дизельное топливо 1%	1	1	0	0	0	0	0
1% ДТ + биочар	1	0	0	0	0	0	0
Дизельное топливо 2,5%	14	5	1	0	0	0	0
2,5% ДТ + биочар	1	1	1	0	0	0	0
Дизельное топливо 5%	17	6	2	0	0	0	0
5% ДТ + биочар	2	2	1	0	0	0	0
Дизельное топливо 10%	20	17	10	1	0	0	0
10% ДТ + биочар	4	2	2	1	0	0	0
Дизельное топливо 25%	26	22	16	6	2	1	1
25% ДТ + биочар	7	7	7	1	0	0	0
Дизельное топливо 50%	130	65	60	20	6	1	0
50% ДТ + биочар	20	11	7	5	0	0	0

В ходе изучения гидрофобности было выявлено, что наиболее существенное изменение показателя наблюдается при загрязнении чернозема дизельным топливом в концентрациях от 2,5% до 50%. В данных вариантах почва становится сильногидрофобной. При этом внесение биочара способствует снижению показателя в среднем для всех доз на 73–93% относительно образцов только с загрязнителем.

## ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ РЕМЕДИАНТОВ НА ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧВ ЮГА РОССИИ ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ НЕФТЬЮ

### 4.1. Влияние ремедиантов на экологическое состояние нефтезагрязненной бурой лесной почвы

На рисунках 38–43 и в таблицах 33–36 представлены результаты исследования воздействия ремедиантов на бурую лесную почву при загрязнении нефтью.

Исследование показало, что нефть значительно подавляет всхожесть, длину побегов и корней редиса в бурой лесной почве, а ремедианты в большинстве случаев в образцах без нефти незначительно изменяют всхожесть и в отдельных дозах повышают длину корней и побегов (кроме нитроаммофоски). В загрязненной почве чаще всего наиболее эффективным является применение 1 и 2 Д биочара и 1 Д «Гумат натрия» (рис. 38–40).

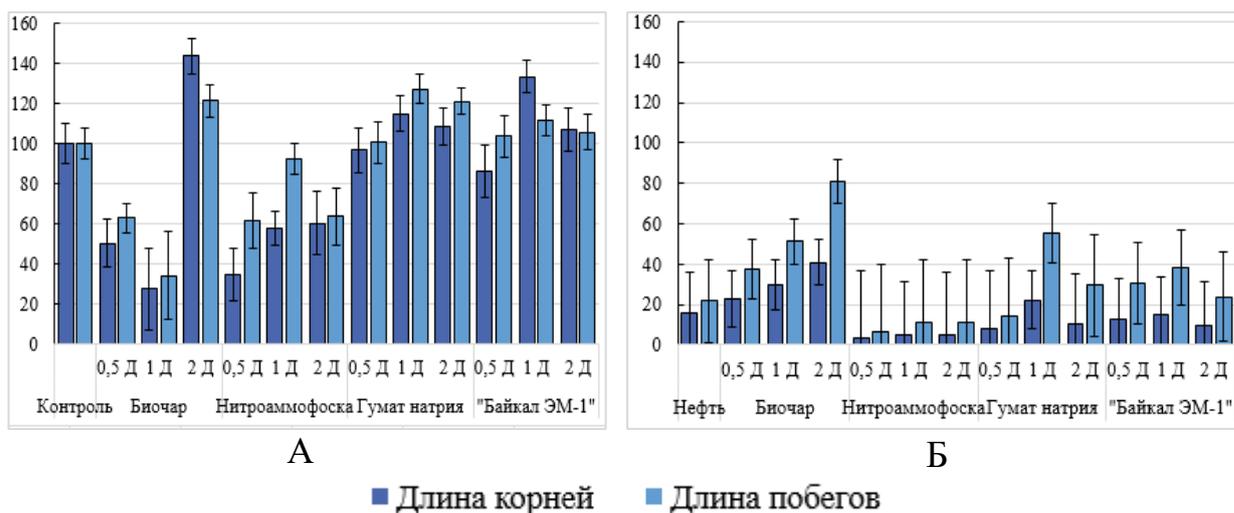


Рисунок 38 – Длина корней и побегов редиса в бурой лесной почве без загрязнителя (А) и при загрязнении нефтью (Б) и внесении ремедиантов, % от контроля

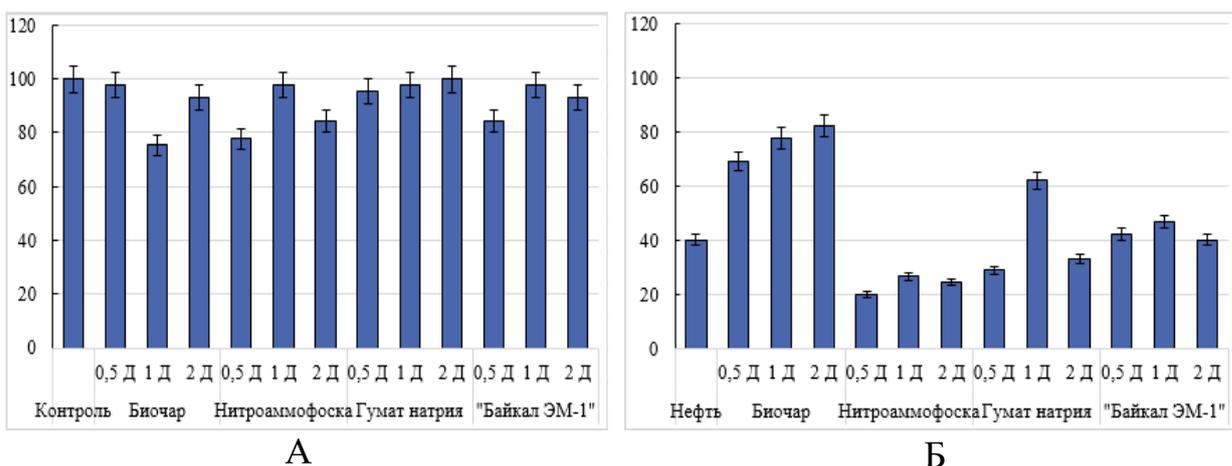


Рисунок 39 – Всхожесть семян редиса в бурой лесной почве без загрязнителя (А) и при загрязнении нефтью (Б) и внесении ремедиантов, % от контроля

Нефть также снижает активность ферментов. Только внесение биочара в загрязненную почву существенно повышает активность дегидрогеназ в бурой полупустынной почве, остальные ремедианты не оказали значительного стимулирующего эффекта на изучаемые ферменты (рис. 40).

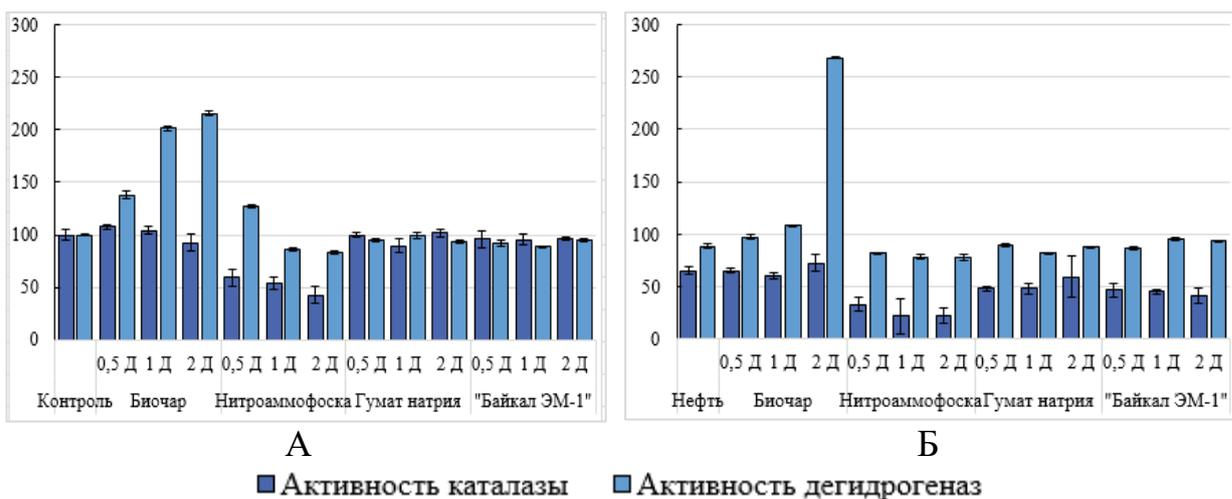


Рисунок 40 – Активность ферментов в бурой лесной почве без загрязнителя (А) и при загрязнении нефтью (Б) и внесении ремедиантов, % от контроля

Исследование общей численности бактерий в бурой лесной почве показало, что загрязнение нефтью существенно снижает показатель относительно контроля. Внесение биочара, нитроаммофоски и «Гумат натрия» в образцы без загрязнителя

также подавляет численность бактерий, при этом «Байкал ЭМ-1» во всех дозах значительно повышает показатель (рис. 41).

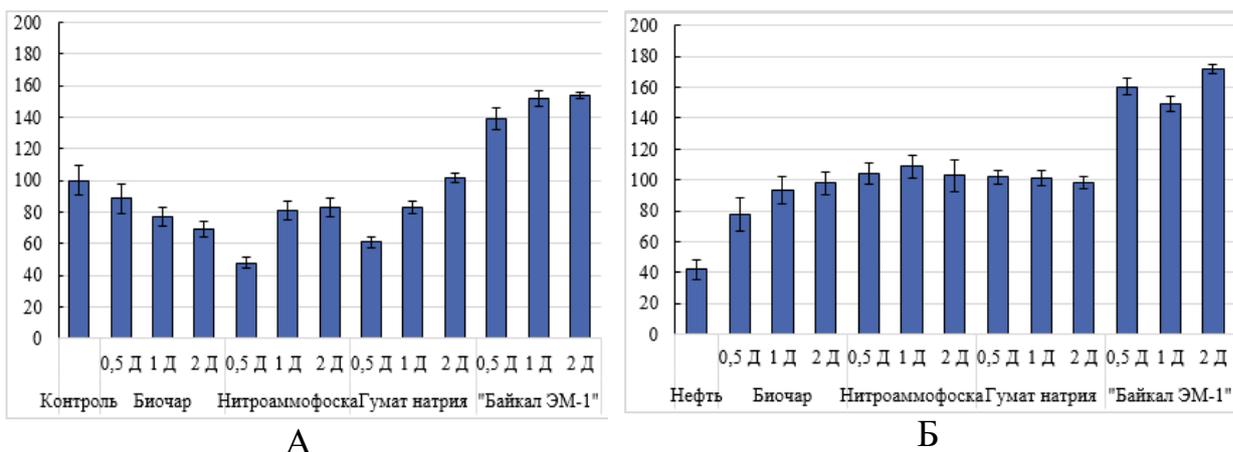


Рисунок 41 – Общая численность бактерий в бурой лесной почве без загрязнителя (А) и при загрязнении нефтью (Б) и внесении ремедиантов, % от контроля

В загрязненной нефтью бурой лесной почве все ремедианты способствуют достоверному повышению численности бактерий, а наиболее существенное увеличение отмечается при использовании «Байкал ЭМ-1», что связано с его природой (микробиологическое удобрение).

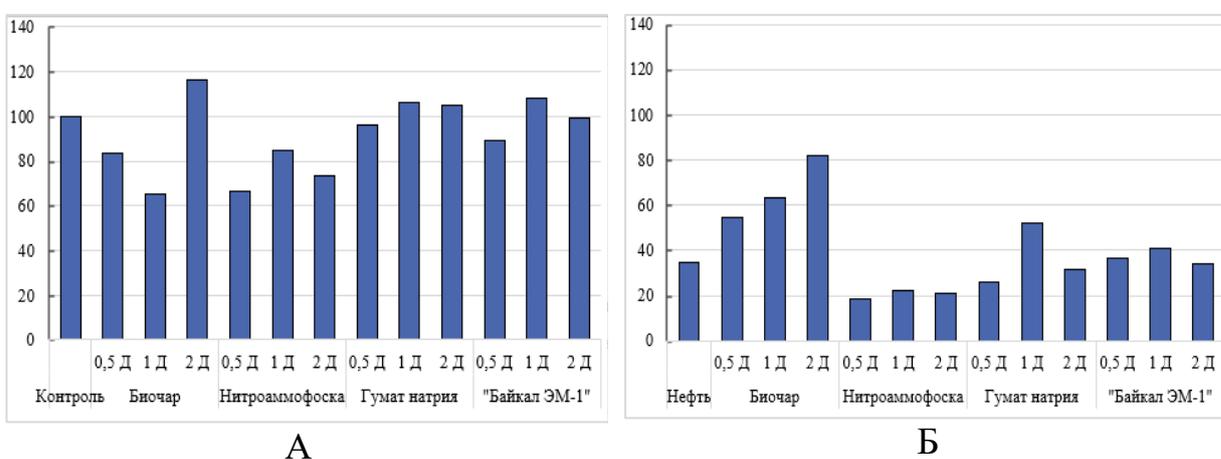


Рисунок 42 – ИПБС бурой лесной почвы без загрязнителя (А) и при загрязнении нефтью (Б) и внесении ремедиантов, % от контроля

Изучение ИПБС в бурой лесной почве показало, что повышение значений биологических показателей в вариантах без загрязнителя происходит при

внесении 2 Д биочара, 1 и 2 Д «Гумат натрия» и 1 Д «Байкал ЭМ-1» (рис. 42). Загрязнение почвы нефтью снижает ИПБС на 65% относительно контроля. Использование биочара в нефтезагрязненной бурой лесной почве оказалось самым эффективным, повышающим значение показателя в среднем по трем дозам на 91% относительно образцов с загрязнителем и без ремедиантов. Также стимуляции показателя способствует 1 Д «Гумат натрия» и 1 Д «Байкал ЭМ-1».

Кроме того, была проведена оценка чувствительности всех изученных показателей при внесении ремедиантов в загрязненную нефтью бурую лесную почву. Они образуют следующий ряд при внесении биочара: *длина корней* > *активность дегидрогеназ* > *длина побегов* > *активность каталазы* > *всхожесть* > *численность бактерий*.

При использовании нитроаммофоски показатели располагаются в следующем порядке: *длина корней* > *длина побегов* > *всхожесть* > *активность каталазы* > *активность дегидрогеназ* > *численность бактерий*.

При внесении «Гумат натрия» показатели образуют следующий ряд: *длина корней* > *длина побегов* > *всхожесть* > *активность каталазы* > *активность дегидрогеназ* > *численность бактерий*.

При использовании «Байкал ЭМ-1» показатели формируют ряд: *длина корней* > *длина побегов* > *численность бактерий* > *всхожесть* > *активность каталазы* > *активность дегидрогеназ*.

Во всех вариантах наибольшая чувствительность установлена для длины корней редиса, а наименьшая для численности бактерий, кроме образцов с «Байкал ЭМ-1», где наименее чувствительным показателем была активность дегидрогеназ.

Кроме того, в бурой лесной почве были определены наиболее эффективные для стимуляции биологических показателей дозы ремедиантов. Для биочара самой эффективной оказалась доза 2 Д, для нитроаммофоски, «Гумат натрия» и «Байкал ЭМ-1» – 1 Д.

Также была проведена оценка эффективности ремедиантов для снижения содержания углеводородов нефти в почве. Она показала, что внесение ремедиантов в загрязненную бурую лесную почву снижает концентрацию нефти в среднем по всем дозам на 14% относительно концентрации нефти на 30-е сутки в образцах без ремедиантов (рис. 43).

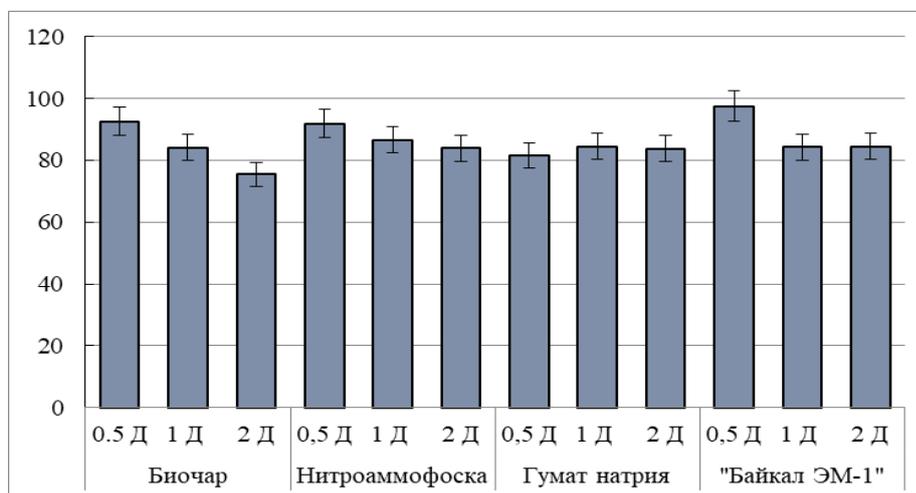


Рисунок 43 – Степень снижения содержания нефти в бурой лесной почве через 30 суток после загрязнения и внесения ремедиантов, % от содержания нефти в почве без ремедиантов

По эффективности снижения содержания нефти в бурой лесной почве ремедианты образуют ряд: *биочар* = «*Гумат натрия*» > *нитроаммофоска* > «*Байкал ЭМ-1*».

К наиболее существенному снижению значений показателя в равной степени приводят биочар и «Гумат натрия», при этом самой эффективной оказалась 2 Д биочара – снижение на 25% (рис. 43).

В таблицах 33–36 представлены значения физических и химических показателей бурой лесной почвы при внесении ремедиантов и загрязнении нефтью (рН, содержание легкорастворимых солей и ОВП).

Изменение физических и химических показателей бурой лесной почвы при внесении ремедиантов

Образцы	Дозы	pH	Общее содержание легкорастворимых солей, ppm	Окислительно-восстановительный потенциал, мВ
Контроль		5,3±0,00	110±2,0	402±4,0
Биочар	0.5 Д	5,4±0,00	81±2,3	403±0,9
	1 Д	5,6±0,01	102±0,9	417±1,4
	2 Д	5,8±0,01	119±0,3	431±2,3
Нитроаммофоска	0.5 Д	4,7±0,01	347±2,9	450±0,0
	1 Д	4,4±0,00	613±2,6	441±2,9
	2 Д	4,4±0,03	1162±1,7	438±0,0
«Гумат натрия»	0.5 Д	5,0±0,03	65±0,9	471±1,7
	1 Д	5,1±0,01	55±0,6	479±1,7
	2 Д	5,0±0,01	64±0,6	488±0,3
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	5,1±0,01	60±0,9	492±0,3
	1 Д	5,1±0,02	70±1,4	495±0,3
	2 Д	5,0±0,00	67±0,6	500±0,0

Таблица 34

Изменение физических и химических показателей бурой лесной почвы при загрязнении нефтью и внесении ремедиантов

Образцы	Дозы	pH	Общее содержание легкорастворимых солей, ppm	Окислительно-восстановительный потенциал, мВ
Нефть		5,2±0,02	56±0,6	494±0,9
Биочар	0.5 Д	5,3±0,06	71±4,6	473±2,9
	1 Д	5,4±0,03	74±1,4	483±2,6
	2 Д	5,9±0,01	78±0,9	473±0,6
Нитроаммофоска	0.5 Д	4,6±0,00	355±0,6	463±0,9
	1 Д	4,3±0,04	656±1,2	442±0,9
	2 Д	4,2±0,00	1040±0,9	430±0,6
«Гумат натрия»	0.5 Д	5,1±0,01	55±0,3	450±1,7
	1 Д	5,1±0,03	56±2,3	482±0,0
	2 Д	5,2±0,01	48±0,6	485±0,3
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	5,2±0,04	54±1,2	487±0,0
	1 Д	5,1±0,02	57±0,6	487±0,3
	2 Д	5,2±0,04	59±0,9	489±0,0

Изменение гидрофобности (тесты EP и WDPT) бурой лесной почвы при внесении ремедиантов, сек.

Образцы	Дозы	процент содержания спирта в растворе						
		0	5	10	15	25	30	35
Контроль		3	2	2	2	2	2	1
Биочар	0.5 Д	6	5	4	4	4	3	3
	1 Д	5	5	5	4	4	3	2
	2 Д	4	4	3	3	3	3	1
Нитроаммофоска	0.5 Д	3	3	3	3	3	3	2
	1 Д	3	2	2	2	2	1	1
	2 Д	3	3	3	3	2	2	2
«Гумат натрия»	0.5 Д	2	1	1	1	1	1	1
	1 Д	4	4	3	3	3	3	1
	2 Д	3	3	3	3	3	2	2
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	4	3	3	3	3	4	1
	1 Д	2	2	2	2	2	1	1
	2 Д	3	2	2	2	2	2	1

Таблица 36

Изменение гидрофобности (тесты EP и WDPT) бурой лесной почвы при загрязнении нефтью и внесении ремедиантов, сек.

Образцы	Дозы	процент содержания спирта в растворе						
		0	5	10	15	25	30	35
Нефть		120	89	50	36	12	11	8
Биочар	0.5 Д	117	86	50	35	9	8	5
	1 Д	113	78	31	29	5	5	4
	2 Д	105	75	44	30	8	7	5
Нитроаммофоска	0.5 Д	108	73	51	35	19	8	4
	1 Д	120	64	55	31	11	12	5
	2 Д	117	89	45	33	10	7	5
«Гумат натрия»	0.5 Д	118	89	52	35	8	10	5
	1 Д	111	86	50	41	16	8	6
	2 Д	101	55	34	31	12	10	7
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	85	61	47	23	13	10	7
	1 Д	82	63	43	32	8	7	4
	2 Д	94	59	39	25	10	6	5

Исследование гидрофобности бурой лесной почвы показало, что она является негидрофобной, внесение ремедиантов повышает показатель относительно контроля, но не меняет его класс в большинстве вариантов.

Загрязнение почвы нефтью значительно повышает ее гидрофобность (до сильногидрофобной). Использование ремедиантов в загрязненных образцах снижает значение показателя, не меняя его степени, при этом «Байкал ЭМ-1» во всех дозах способствовал наибольшему снижению. Использование ремедиантов в целом способствует снижению гидрофобности загрязненной нефтью бурой лесной почвы на 2–32%.

#### 4.2. Влияние ремедиантов на экологическое состояние нефтезагрязненной бурой полупустынной почвы

На рисунках 44–49 и в таблицах 37–40 представлены результаты исследования воздействия ремедиантов на бурую полупустынную почву при загрязнении нефтью.

Исследование показало, что нефть подавляет всхожесть семян редиса, снижает длину корней и побегов редиса в бурой полупустынной почве. Ремедиация загрязненных почв в большинстве вариантов была наиболее эффективной при использовании биочара во всех дозах и «Байкал ЭМ-1» в рекомендуемой дозе (рис. 44, 45).

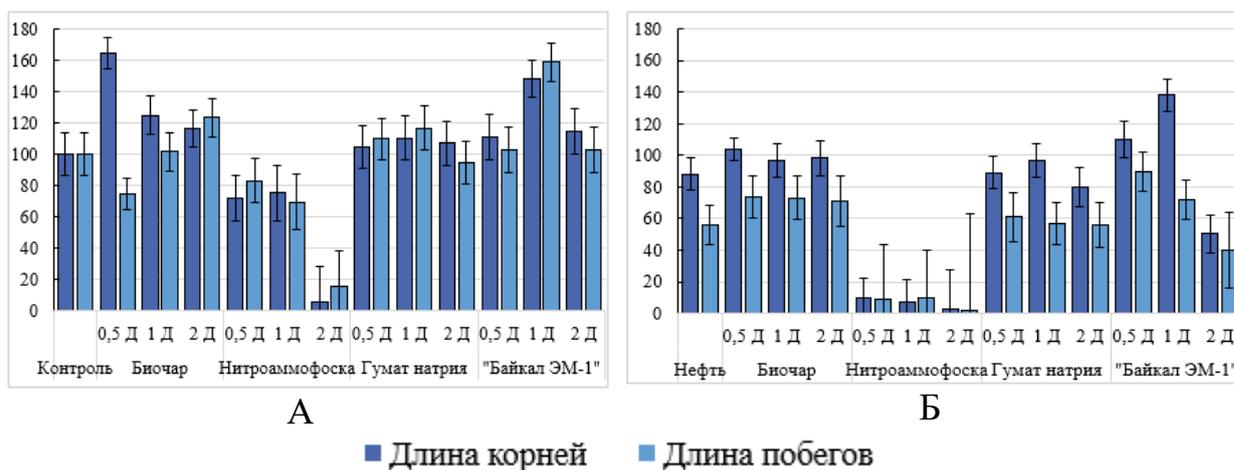


Рисунок 44 – Длина корней и побегов редиса в бурой полупустынной почве без загрязнителя (А) и при загрязнении нефтью (Б) и внесении ремедиантов, % от контроля

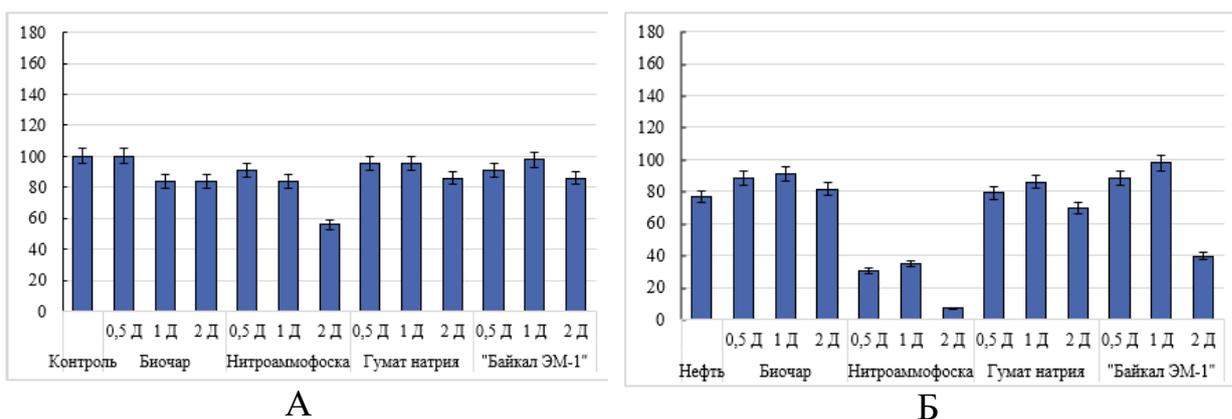


Рисунок 45 – Всхожесть семян редиса в бурой полупустынной почве без загрязнителя (А) и при загрязнении нефтью (Б) и внесении ремедиантов, % от контроля

При изучении активности ферментов класса оксидоредуктаз в нефтезагрязненной бурой полупустынной почве выявили, что активность дегидрогеназ стимулирует нитроаммофоска, «Гумат натрия» и «Байкал ЭМ-1», активность каталазы – 0,5 Д «Гумат натрия» и все дозы нитроаммофоски (рис. 46).

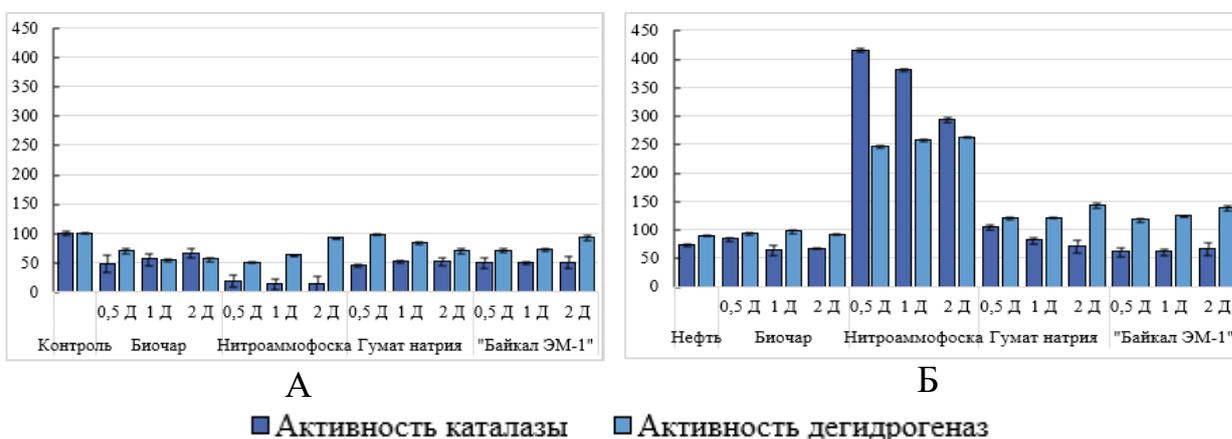


Рисунок 46 – Активность ферментов в бурой полупустынной почве без загрязнителя (А) и при загрязнении нефтью (Б) и внесении ремедиантов, % от контроля

При загрязнении нефтью нитроаммофоска, «Гумат натрия» и «Байкал ЭМ-1» приводят к достоверному повышению общей численности бактерий в бурой

полупустынной почве относительно образцов только с нефтью, при этом последний ремедиант оказывает наибольший стимулирующий эффект (рис. 47).

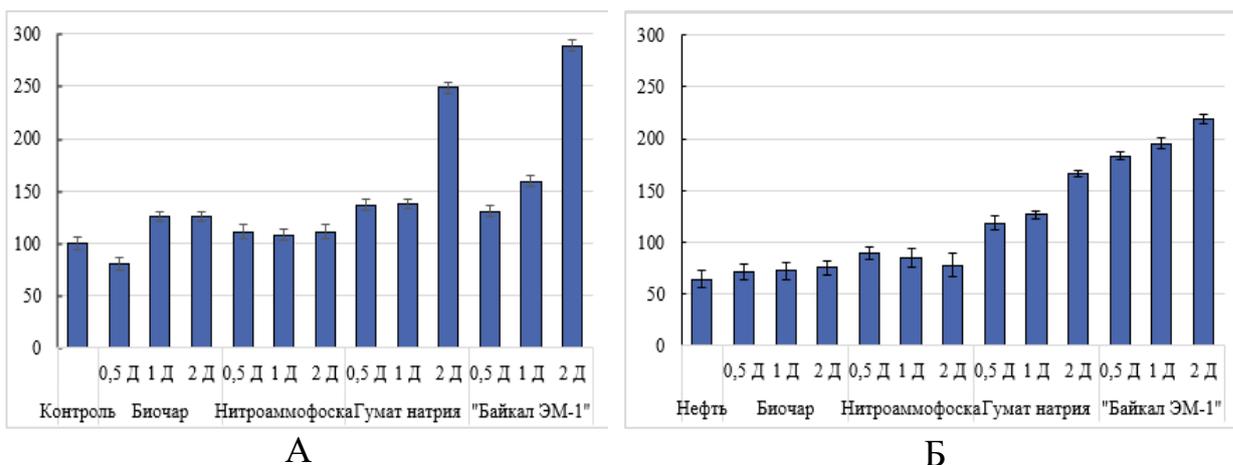


Рисунок 47 – Общая численность бактерий в бурой полупустынной почве без загрязнителя (А) и при загрязнении нефтью (Б) и внесении ремедиантов, % от контроля

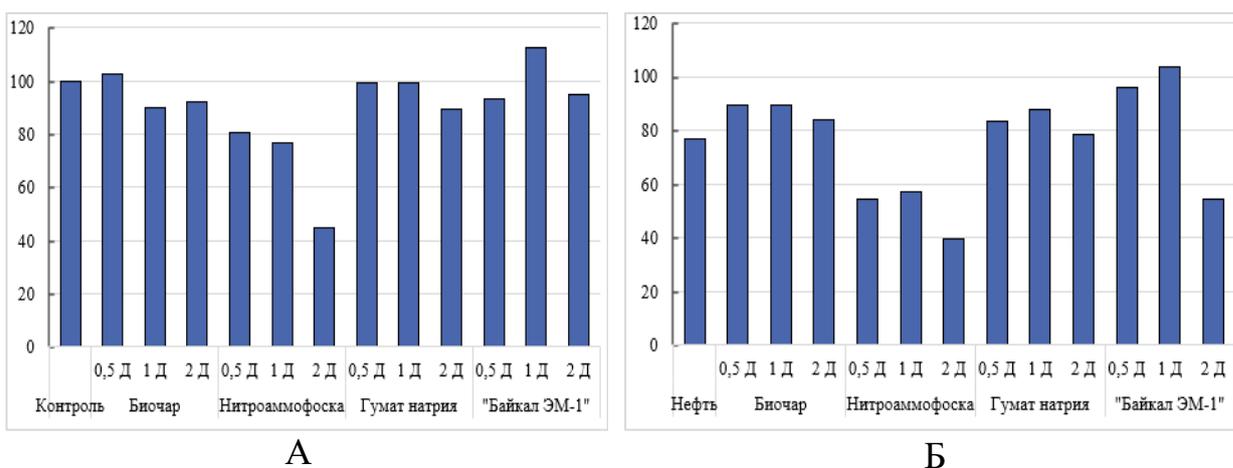


Рисунок 48 – ИПБС бурой полупустынной почвы без загрязнителя (А) и при загрязнении нефтью (Б) и внесении ремедиантов, % от контроля

Изучение интегрального показателя биологического состояния бурой полупустынной почвы показало, что внесение ремедиантов в почву без загрязнителя способствует снижению значения показателя относительно контроля во всех вариантах, кроме образцов с 0,5 Д биочара и 1 Д «Байкал ЭМ-1» (рис. 46). Нефть снижает ИПБС на 23% по сравнению с контролем. Внесение биочара и

«Гумат натрия» во всех дозах и «Байкал ЭМ-1» в дозах 0,5 и 1 Д повышает показатель относительно почвы с нефтью и без ремедиантов. Наиболее эффективным оказался биочар (стимуляция на 14% в среднем по трем дозам).

На основании всех биологических показателей при внесении ремедиантов в загрязненную нефтью почву составлены ряды чувствительности.

При внесении биочара ряд имеет вид: *активность каталазы* > *длина побегов* = *численность бактерий* > *всхожесть* > *активность дегидрогеназ* > *длина корней*.

При использовании нитроаммофоски показатели располагаются в следующем порядке: *активность каталазы* > *активность дегидрогеназ* > *длина побегов* = *длина корней* > *всхожесть* > *численность бактерий*.

При внесении в почву «Гумат натрия» ряд из показателей имеет вид: *длина побегов* > *численность бактерий* > *активность дегидрогеназ* > *всхожесть* > *активность каталазы* > *длина корней*.

При внесении в почву «Байкал ЭМ-1» показатели располагаются в следующем порядке: *численность бактерий* > *активность каталазы* > *длина побегов* > *активность дегидрогеназ* > *всхожесть* > *длина корней*.

Наиболее эффективными дозами для стимуляции биологических показателей в бурой полупустынной почве были: для биочара и нитроаммофоски – 0,5 Д, для «Гумат натрия» – 2 Д, для «Байкал ЭМ-1» – 1 Д.

Оценка эффективности ремедиантов для снижения содержания нефти показала, что внесение ремедиантов в загрязненную бурую полупустынную почву снижает концентрацию нефти в среднем по всем дозам на 9% относительно концентрации нефти на 30-е сутки в образцах без ремедиантов (рис. 49). Наиболее значительные изменения наблюдаются при внесении в почву биочара и «Байкал ЭМ-1», при этом самой эффективной оказалась двойная доза биочара, изменяющая показатель на 27% (рис. 49).

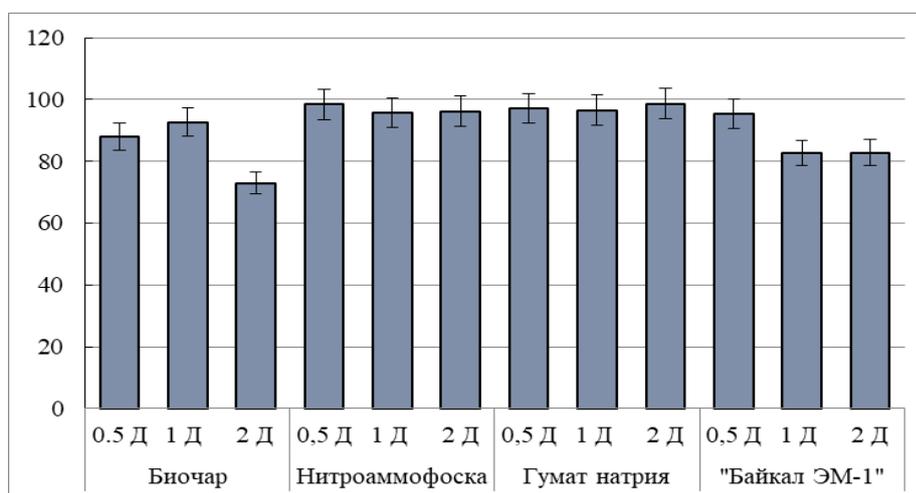


Рисунок 49 – Степень снижения содержания нефти в бурой полупустынной почве через 30 суток после загрязнения и внесения ремедиантов, % от содержания нефти в почве без ремедиантов

По эффективности снижения концентрации нефти в бурой полупустынной почве ремедианты образуют аналогичный с черноземом обыкновенным на 30-е сутки эксперимента ряд: *биочар* > *«Байкал ЭМ-1»* > *нитроаммофоска* > *«Гумат натрия»*.

Наибольшая эффективность биочара для снижения содержания углеводородов нефти во всех изучаемых почвах прежде всего обусловлена тем, что он является сорбентом. Кроме того, биочар может способствовать повышению числа микроорганизмов в почве, что может происходить по нескольким причинам. Во-первых, за счет сорбции нефти снижается токсический эффект, оказываемый загрязнителем на почвенную биоту. Во-вторых, исходное сырье для биочара содержит в себе минеральные биогенные элементы, которые остаются в нем даже после пиролиза. Биочар также может поглощать и удерживать в себе биогенные элементы из почвы благодаря структуре поверхности. Эти элементы (изначально присутствующие и поглощенные) являются доступными для почвенных микроорганизмов и могут стимулировать

их численность (Ding et al., 2016; Zhu et al., 2017; Gorovtsov et al., 2019; Dike et al., 2021; Ruseva et al., 2023b).

В таблицах 37–40 приведены физические и химические показатели бурой полупустынной почвы при внесении ремедиантов и загрязнении нефтью (рН, содержание легкорастворимых солей и ОВП).

Таблица 37

Изменение физических и химических показателей бурой полупустынной почвы при внесении ремедиантов

Образцы	Дозы	рН	Общее содержание легкорастворимых солей, ppm	Окислительно-восстановительный потенциал, мВ
Контроль		6,7±0,15	373±2,3	306±8,1
Биочар	0.5 Д	7,3±0,02	406±3,2	316±3,5
	1 Д	7,6±0,05	351±3,2	298±0,9
	2 Д	7,7±0,01	463±3,8	303±1,7
Нитроаммофоска	0.5 Д	6,8±0,03	884±0,9	322±0,6
	1 Д	6,7±0,00	1017±6,6	306±3,2
	2 Д	6,7±0,01	1562±3,8	291±3,2
«Гумат натрия»	0.5 Д	7,6±0,01	570±4,0	343±9,2
	1 Д	7,6±0,00	394±3,5	317±3,2
	2 Д	7,7±0,05	387±0,9	313±0,9
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	7,8±0,01	351±0,3	311±1,2
	1 Д	7,8±0,00	368±0,6	317±2,0
	2 Д	7,8±0,01	407±2,0	313±0,0

Изменение физических и химических показателей бурой полупустынной почвы при загрязнении нефтью и внесении ремедиантов

Образцы	Дозы	pH	Общее содержание легкорастворимых солей, ppm	Окислительно-восстановительный потенциал, мВ
Нефть		8,0±0,00	218±2,0	312±1,2
Биочар	0.5 Д	7,9±0,01	289±3,2	309±3,5
	1 Д	7,8±0,01	363±1,2	308±0,6
	2 Д	8,0±0,01	330±2,0	297±0,9
Нитроаммофоска	0.5 Д	7,2±0,03	547±4,3	283±2,3
	1 Д	6,9±0,00	858±4,3	273±1,4
	2 Д	6,5±0,01	1483±5,8	282±0,3
«Гумат натрия»	0.5 Д	7,5±0,03	184±0,3	314±2,6
	1 Д	7,8±0,03	165±0,3	324±0,6
	2 Д	7,9±0,00	148±0,3	319±0,0
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	8,0±0,00	175±3,5	314±1,7
	1 Д	8,0±0,02	152±2,0	323±1,2
	2 Д	8,0±0,01	170±0,9	318±2,3

Таблица 39

Изменение гидрофобности (тесты EP и WDPT) бурой полупустынной почвы при внесении ремедиантов, сек.

Образцы	Дозы	процент содержания спирта в растворе						
		0	5	10	15	25	30	35
Контроль		0	0	0	0	0	0	0
Биочар	0.5 Д	0	0	0	0	0	0	0
	1 Д	1	0	0	0	0	0	0
	2 Д	6	2	2	1	0	0	0
Нитроаммофоска	0.5 Д	0	0	0	0	0	0	0
	1 Д	0	0	0	0	0	0	0
	2 Д	0	0	0	0	0	0	0
«Гумат натрия»	0.5 Д	0	0	0	0	0	0	0
	1 Д	0	0	0	0	0	0	0
	2 Д	0	0	0	0	0	0	0
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	0	0	0	0	0	0	0
	1 Д	0	0	0	0	0	0	0
	2 Д	0	0	0	0	0	0	0

Изменение гидрофобности (тесты EP и WDPT) бурой полупустынной почвы при загрязнении нефтью и внесении ремедиантов, сек.

Образцы	Дозы	процент содержания спирта в растворе						
		0	5	10	15	25	30	35
Нефть		148	81	79	47	5	2	1
Биочар	0.5 Д	91	50	37	21	3	1	0
	1 Д	50	42	17	12	5	3	1
	2 Д	29	20	12	10	5	1	1
Нитроаммофоска	0.5 Д	75	36	20	12	3	2	1
	1 Д	78	37	28	20	4	3	2
	2 Д	76	55	24	11	2	2	1
«Гумат натрия»	0.5 Д	55	43	22	17	4	2	1
	1 Д	52	36	26	13	2	1	1
	2 Д	67	69	40	19	5	3	2
«Байкал ЭМ-1»	0.5 Д	42	26	23	12	2	2	1
	1 Д	24	20	20	18	5	2	1
	2 Д	10	8	6	4	1	1	0

Изучение гидрофобности бурой полупустынной почвы показало, что она является негидрофобной. Внесение ремедиантов не меняет класс гидрофобности, кроме варианта с биочаром в дозе 2 Д, где почва становится слабогидрофобной. Внесение нефти способствует повышению гидрофобности бурой полупустынной почвы, меняя класс на сильногидрофобную. Ремедианты приводят к снижению значений показателя при загрязнении, при этом наиболее значимые изменения наблюдаются при внесении 2 Д биочара и всех доз «Байкал ЭМ-1». С повышением концентрации спирта в растворе также снижается интенсивность гидрофобности (табл. 39–40). Использование ремедиантов способствует снижению гидрофобности загрязненной бурой полупустынной почвы на 39–93%.

## ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ БИОЧАРА НА ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ЗОНАЛЬНЫХ ПОЧВ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ НЕФТЬЮ

В данной главе представлены результаты изучения влияния биочара на состояние загрязненных нефтью зональных почв Европейской части России. Проведено исследование ремедиации почв Тульской и Московской области и их сравнение с почвами Юга России (рис. 50–57, табл. 41–42).

Исследование почв Московской и Тульской областей показало, что внесение биочара способствует увеличению длины корней и побегов, всхожести в дерново-подзолистой почве и черноземе оподзоленном, при этом в темно-серой лесной почве наоборот происходит снижение значений показателей относительно контроля. Загрязнение нефтью приводит к достоверному уменьшению показателей редиса во всех изучаемых почвах по сравнению с контрольными образцами (рис. 50, 51).

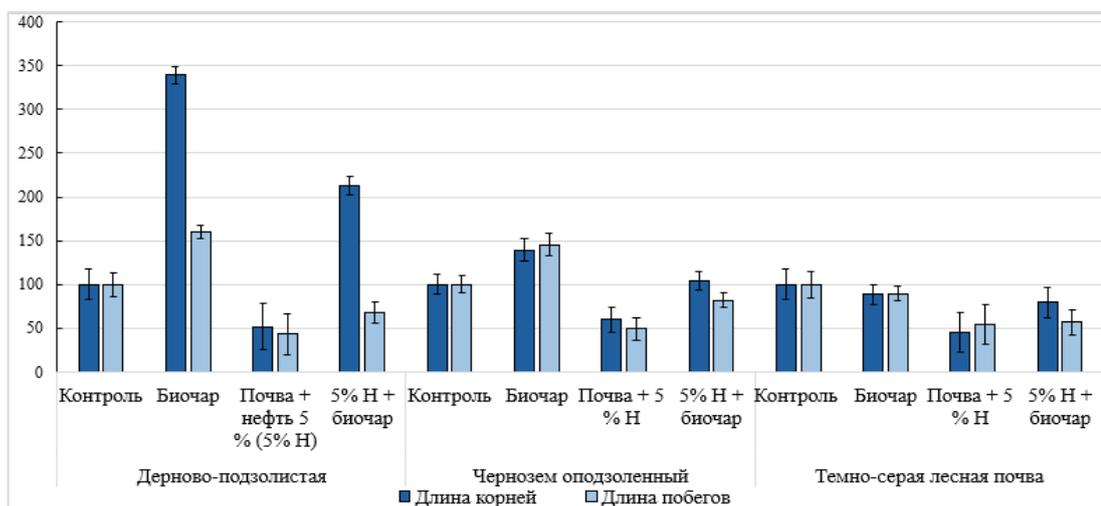


Рисунок 50 – Изменение длины корней и побегов в почвах при загрязнении нефтью и внесении биочара, % от контроля

Внесение биочара в загрязненные нефтью почвы приводит к стимуляции длины корней и побегов в дерново-подзолистой почве на 310 и 56%, в черноземе

оподзоленном на 74 и 67%, в темно-серой лесной на 77 и 5% соответственно относительно образцов с загрязнителем и без ремедианта (рис. 50).

Биочар стимулирует всхожесть во всех загрязненных нефтью почвах, при этом наибольшее существенное достоверное увеличение происходит в дерново-подзолистой почве и черноземе оподзоленном на 79 и 38% соответственно относительно контроля (рис. 51).

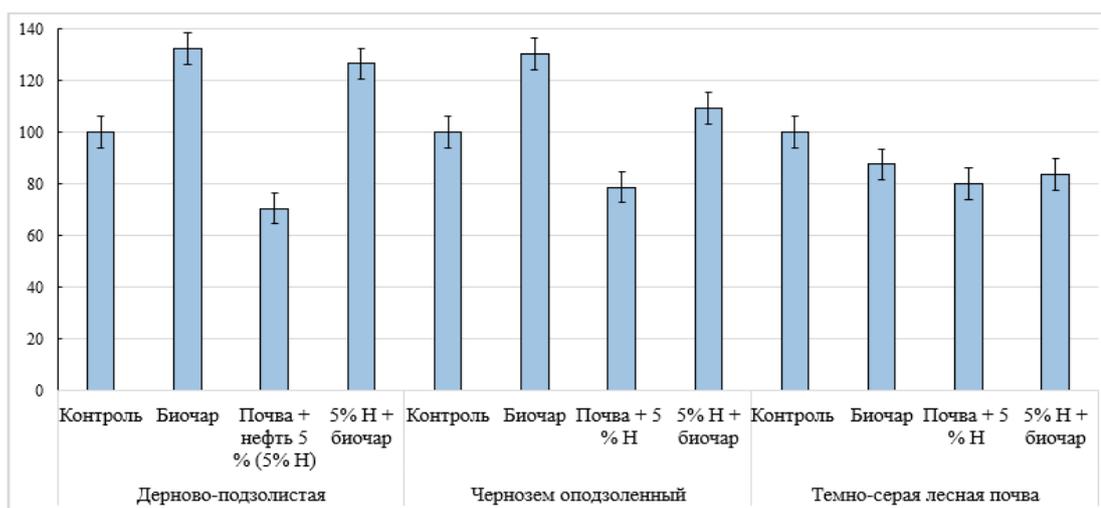


Рисунок 51 – Изменение всхожести семян редиса в почвах при загрязнении нефтью и внесении биочара, % от контроля

Изучение активности ферментов (каталазы и дегидрогеназ) и общей численности бактерий показало, что биочар приводит к снижению всех показателей в черноземе оподзоленном и темно-серой лесной почве, а также достоверному повышению значений дегидрогеназ и численности бактерий в дерново-подзолистой почве относительно контроля. Загрязнение почв нефтью снижает значения всех показателей во всех исследуемых почвах (рис. 52, 53).

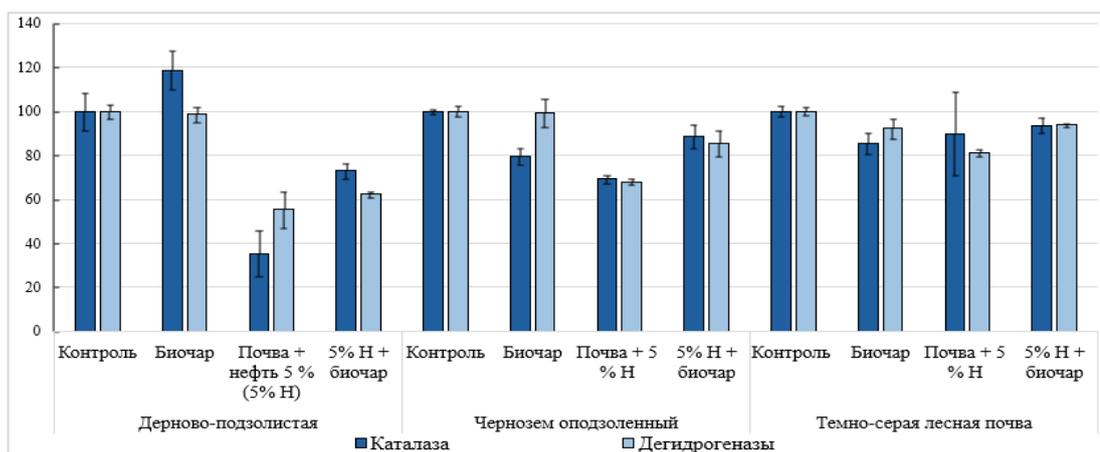


Рисунок 52 – Изменение активности каталазы и дегидрогеназ в почвах при загрязнении нефтью и внесении биочара, % от контроля

Внесение в нефтезагрязненные почвы биочара стимулирует активность ферментов, при этом наиболее существенное достоверное повышение активности дегидрогеназ наблюдается в черноземе оподзоленном и темно-серой лесной почве (на 26 и 16% соответственно при сравнении с загрязненными образцами), а каталазы – только в черноземе оподзоленном (на 28%) (рис. 52).

Внесение биочара в загрязненные почвы повышает показатель на 6–63%, при этом наиболее существенная стимуляция относительно нефтезагрязненных образцов происходит в черноземе оподзоленном и темно-серой лесной почве (рис. 53).

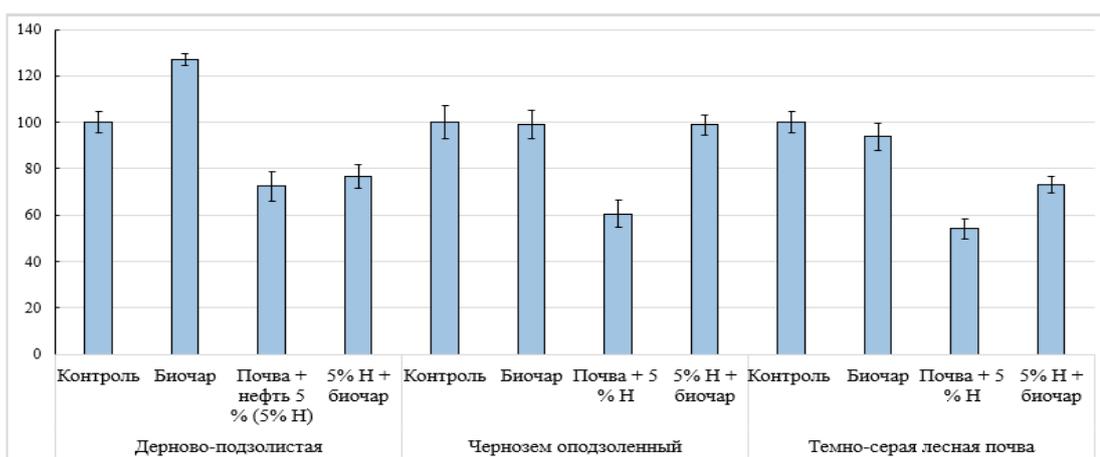


Рисунок 53 – Изменение общей численности бактерий в почвах при загрязнении нефтью и внесении биочара, % от контроля

Исследование ИПБС почв Московской и Тульской областей показало, что биочар способствует повышению значений показателя в дерново-подзолистой почве и черноземе оподзоленном на 48 и 28% соответственно, а внесение ремедианта в темно-серую лесную почву напротив приводит к снижению показателя на 11% относительно контроля (рис. 54).

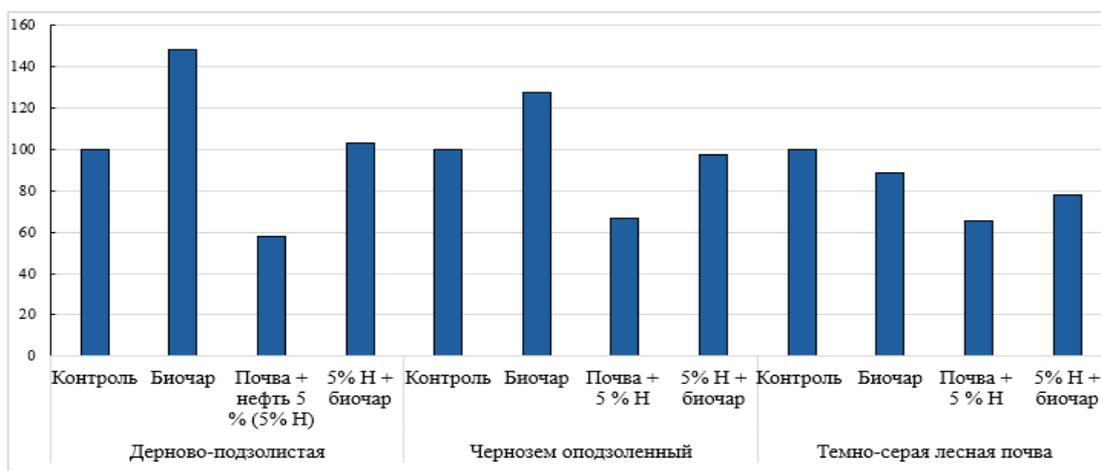


Рисунок 54 – ИПБС почв при загрязнении нефтью и внесении биочара, % от контроля

Загрязнение почв нефтью снижает ИПБС во всех изучаемых почвах относительно контроля: на 42% в дерново-подзолистой почве, на 34% в черноземе оподзоленном и в темно-серой лесной почве. Внесение биочара увеличивает значение показателя относительно почв с нефтью и без ремедианта в дерново-подзолистой почве на 77%, в черноземе оподзоленном на 47%, в темно-серой лесной почве на 18%.

На основании биологических показателей при внесении биочара в загрязненные нефтью почвы была проведена оценка их чувствительности. В дерново-подзолистой почве наиболее чувствительной оказалась длина корней редиса, в черноземе оподзоленном и темно-серой лесной почве – длина побегов редиса.

В дерново-подзолистой почве показатели образуют ряд: *длина корней* > *активность дегидрогеназ* > *длина побегов* > *активность каталазы* > *всхожесть* > *численность бактерий*.

В черноземе оподзоленном показатели располагаются в следующем порядке: *длина побегов* > *активность дегидрогеназ* > *активность каталазы* > *всхожесть* > *длина корней* > *численность бактерий*.

В темно-серой лесной почве ряд из показателей имеет вид: *длина побегов* > *численность бактерий* > *длина корней* > *всхожесть* > *активность дегидрогеназ* = *активность каталазы*.

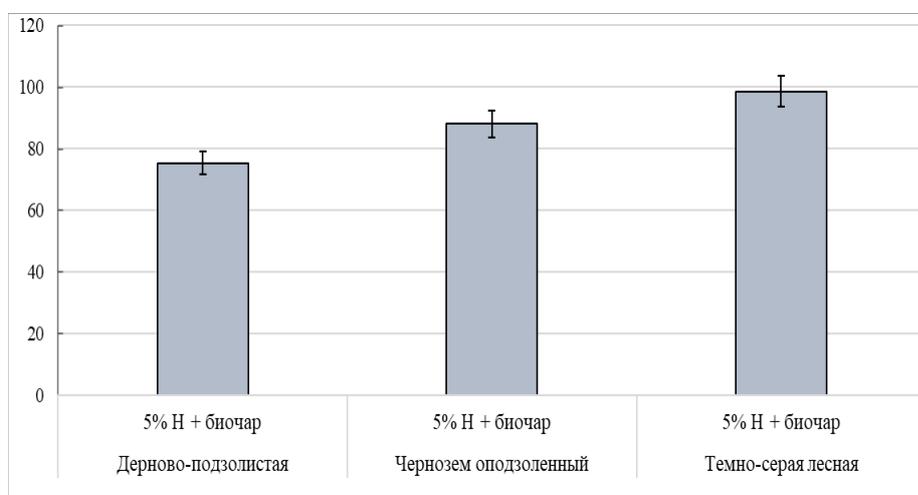


Рисунок 55 – Степень снижения содержания нефти в почвах через 30 суток после загрязнения и внесения биочара, % от содержания нефти в почве без ремедианта

Также была проведена оценка эффективности биочара для снижения содержания нефти в почвах. Исследование показало, что при внесении ремедианта в дерново-подзолистой почве происходит снижение концентрации нефти на 25%, в черноземе оподзоленном – на 12%, а в темно-серой лесной почве содержание нефти снижается на 1% относительно концентрации нефти на 30-е сутки в образцах без биочара (рис. 55).

На основании степени стимуляции биологических показателей и снижения концентрации углеводородов нефти была проведена оценка эффективности

применения биочара для ремедиации нефтезагрязненных почв. По эффективности применения ремедианта почвы образуют ряд (от наибольшей к наименьшей эффективности): *дерново-подзолистая* > *чернозем оподзоленный* > *темно-серая лесная*.

В таблицах 41–42 представлены значения физических и химических показателей почв Тульской и Московской области при внесении биочара и загрязнении нефтью. Исследование показало, что значительных изменений рН, содержания солей и ОВП почв при внесении нефти и биочара не происходит.

Таблица 41

Изменение физических и химических показателей почв Московской и Тульской областей при загрязнении нефтью и внесении биочара

Почвы	Образцы	рН	Общее содержание легкорастворимых солей, ppm	Окислительно-восстановительный потенциал, мВ
<i>Дерново-подзолистая</i>	Контроль	4,9±0,01	69±3,5	329±1,2
	Биочар	4,8±0,02	136±2,3	331±2,6
	Почва + нефть 5 % (5% Н)	4,8±0,01	60±0,6	331±0,9
	5% Н + биочар	4,9±0,00	61,5±0,3	327±1,4
<i>Темно-серая лесная</i>	Контроль	5,7±0,02	174±4,6	337±2,9
	Биочар	6,2±0,00	193±2,3	333±1,2
	Почва + нефть 5 %	6,5±0,02	38±4,0	346±0,6
	5% Н + биочар	6,7±0,01	62,5±0,9	292±1,4
<i>Чернозем оподзоленный</i>	Контроль	6,5±0,02	78,5±4,3	249±0,6
	Биочар	7,1±0,01	113,5±0,3	251±1,4
	Почва + нефть 5 %	6,5±0,09	29±2,9	292±0,3
	5% Н + биочар	6,8±0,01	68±2,3	277±2,0

Изменение гидрофобности (тесты EP и WDPT) почв Московской и Тульской областей при загрязнении нефтью и внесении биочара, сек.

Почвы	Образцы	процент содержания спирта в растворе						
		0	5	10	15	25	30	35
<i>Дерново-подзолистая</i>	Контроль	13	9	8	6	5	3	2
	Биочар	12	5	5	5	5	3	3
	Почва + нефть 5 % (5% Н)	1020	1001	900	890	603	350	216
	5% Н + биочар	400	325	243	180	118	120	120
<i>Темно-серая лесная</i>	Контроль	2	2	2	2	3	2	2
	Биочар	4	2	2	2	2	2	1
	Почва + нефть 5 %	700	703	351	141	16	9	7
	5% Н + биочар	455	480	106	70	63	10	2
<i>Чернозем оподзоленный</i>	Контроль	2	2	2	2	1	1	1
	Биочар	2	2	2	1	1	1	1
	Почва + нефть 5 %	349	207	249	270	103	20	9
	5% Н + биочар	255	156	60	48	17	18	3

Изучение гидрофобности почв показало, что чернозем оподзоленный и темно-серая лесная почва относятся к негидрофобным почвам. В последней биочар в некоторой степени повышает значение гидрофобности, но не меняет ее класс. В то же время дерново-подзолистая почва согласно тесту WDPT относится к слабогидрофобной, а биочар незначительно снижает показатель (табл. 42). Внесение биочара в чернозем оподзоленный снижает показатель на 27%, в темно-серую лесную – на 35%, в дерново-подзолистую – на 61%.

Загрязнение нефтью приводит к изменению класса гидрофобности в дерново-подзолистой и темно-серой лесной почвах – очень сильногидрофобная, а в черноземе оподзоленном почва становится сильногидрофобной. Биочар приводит к уменьшению гидрофобности в почвах с нефтью, при этом в дерново-подзолистой и в темно-серой лесной почве меняет ее класс до сильногидрофобной. Интенсивность гидрофобности во всех вариантах также в целом снижается с повышением концентрации спирта в растворе (табл. 42).

На основании интегрального показателя биологического состояния всех исследуемых в работе почв была проведена оценка эффективности использования

рекомендуемой дозы биочара (1 Д) для стимуляции биологических показателей (рис. 56).

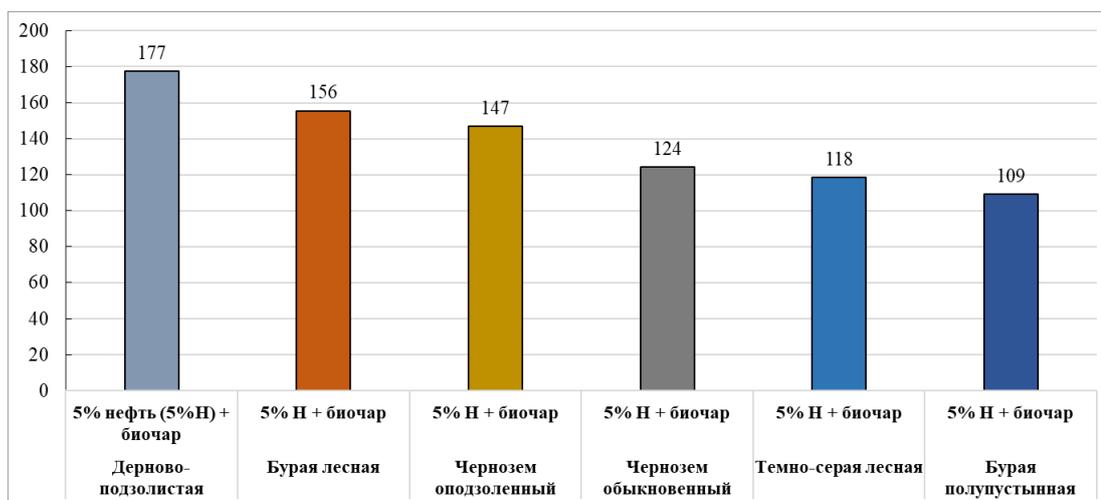


Рисунок 56 – ИПБС почв Европейской части России после внесения нефти и биочара, % от нефтезагрязненных образцов

Исследование показало, что биочар способствует стимуляции ИПБС всех изучаемых почв на 9–77% относительно образцов с загрязнителем, но без ремедианта, при этом наибольшее значение показателя отмечается в дерново-подзолистой почве, а наименьшее – в бурой полупустынной почве. Меньшее изменение показателя бурой полупустынной почвы по сравнению с остальными почвами при загрязнении и внесении ремедианта может быть связано с ее легкосуглинистым гранулометрическим составом. За счет легкого состава в почве в целом наблюдается лучшая аэрация, которая нарушается в меньшей степени при нефтезагрязнении по сравнению с тем же процессом в тяжелосуглинистых почвах.

По эффективности применения ремедианта был составлен ряд из почв (от наибольшей к наименьшей эффективности): *дерново-подзолистая* > *чернозем оподзоленный* > *бурая лесная* > *темно-серая лесная* > *бурая полупустынная* > *чернозем обыкновенный*.

Кроме того, была проведена оценка эффективности биочара для снижения содержания углеводов нефти в почвах (рис. 57).

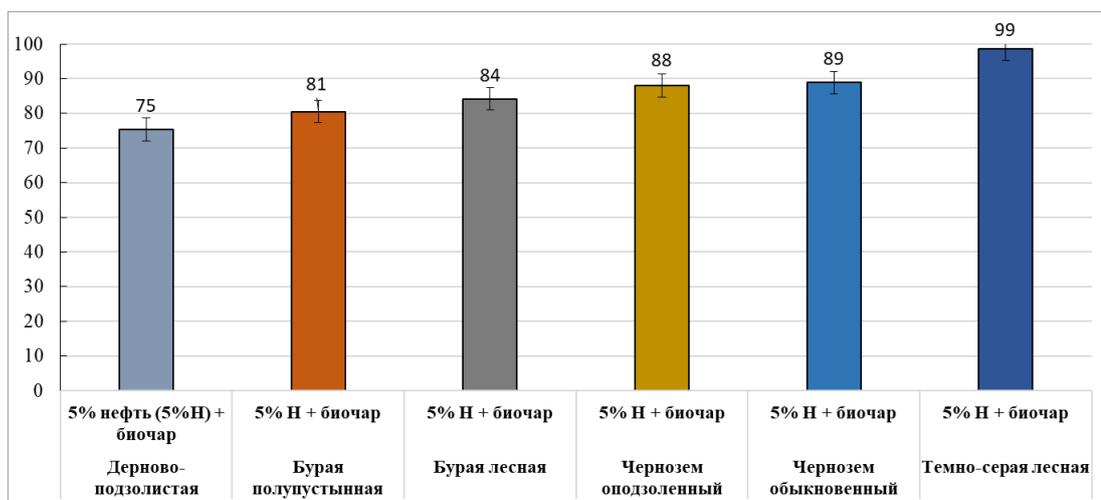


Рисунок 57 – Степень снижения содержания нефти в почвах Европейской части России через 30 суток после загрязнения и внесения биочара, % от содержания нефти в почве без ремедианта

Было выявлено, что биочар способствует снижению концентрации нефти во всех изучаемых почвах относительно концентрации нефти на 30-е сутки в образцах без биочара на 1–25%. При этом максимальная эффективность ремедианта отмечается в наименее плодородных почвах – дерново-подзолистой и бурой полупустынной.

## ВЫВОДЫ

1. Применение ремедиантов (биочара, «Байкал ЭМ-1», «Гумат натрия», нитроаммофоски) при загрязнении нефтяными углеводородами (нефтью, мазутом, бензином, дизельным топливом) позволяет увеличить значения ИПБС почв при использовании биочара максимально до 135%, нитроаммофоски до 121%, «Байкал ЭМ-1» до 77%, «Гумат натрия» до 71%, и снизить содержание нефти в почве при использовании биочара максимально на 28%, «Байкал ЭМ-1» на 23%, «Гумата натрия» на 18%, нитроаммофоски на 17%. С увеличением продолжительности ремедиации экологическое состояние почв улучшается.

2. При ремедиации загрязненных нефтяными углеводородами почв исследованные ремедианты оказывают наибольший стимулирующий эффект в большинстве случаев на показатели роста и развития растений, наименьшая стимуляция характерна для общей численности бактерий. Среди ферментов класса оксидоредуктаз наиболее чувствительными являются ферриредуктазы, а среди гидролаз – уреазы. Наиболее чувствительной группой микроорганизмов являются аммонифицирующие бактерии.

3. Для оценки эффективности ремедиации почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, рекомендуются следующие биологические показатели: длина корней и побегов редиса, всхожесть семян редиса, активность каталазы, дегидрогеназ, фосфатазы, ферриредуктаз, пероксидаз, уреазы, инвертазы, общая численность бактерий, численность амилолитических, аммонифицирующих бактерий и актиномицетов.

4. Внесение биочара в нефтезагрязненные почвы способствует снижению гидрофобности бурой полупустынной на 64%, дерново-подзолистой на 61%, чернозема обыкновенного на 43%, темно-серой лесной на 35%, бурой лесной на 19% и чернозема оподзоленного на 27%. На такие показатели, как

pH, содержание солей и окислительно-восстановительный потенциал ремедианты оказывают менее существенное воздействие.

5. В зависимости от типа почв эффективность применения ремедиантов при загрязнении нефтяными углеводородами значительно отличается. По эффективности применения биочара при загрязнении для стимуляции биологических показателей зональные почвы Европейской части России образуют ряд: *дерново-подзолистая* (увеличение ИПБС на 77%) > *бурая лесная* (56%) > *чернозем оподзоленный* (47%) > *чернозем обыкновенный* (24%) > *темно-серая лесная* (18%) > *бурая полупустынная* (9%). По степени эффективности использования биочара для снижения содержания нефти, исследуемые почвы располагаются в следующем порядке: *дерново-подзолистая* (снижение на 25%) > *бурая полупустынная* (19%) > *бурая лесная* (16%) > *чернозем оподзоленный* (12%) > *чернозем обыкновенный* (11%) > *темно-серая лесная* (1%).

6. В незагрязненных почвах ремедианты оказывают разнонаправленный эффект на биологические показатели: в одних случаях происходит подавление показателей роста и развития растений, активности ферментов и численности бактерий, в других случаях (чаще всего при внесении «Байкал ЭМ-1») наблюдается стимуляция показателей.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

1 Д — доза, рекомендуемая производителем или по литературным данным

0,5 Д — доза, составляющая половину от рекомендуемой

2 Д — доза, превышающая рекомендуемую в 2 раза

ИПБС — интегральный показатель биологического состояния

ОВП — окислительно-восстановительный потенциал

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Архипова Л. В., Кормилицына О. В., Бондаренко В. В., Коолен Д. Проблемы с гидрофобностью почвы и пути их решения // Вестник МГУЛ – Лесной вестник. 2007. №7.
2. Бабьева М. А., Зенова Н. К. Биология почв / М.: Изд-во МГУ, 1989. 336 с.
3. Байчоров Р. А. Действие нефти и нефтепродуктов на свойства почв и продуктивность растений // E-Scio. – 2020. – № 2 (41). – С. 143–148.
4. Безуглова О. С. Ремедиация нефтезагрязненных черноземных почв с помощью препарата «Байкал ЭМ-1» // Ростов-на-Дону, 2008. – С. 17–19.
5. Булуктаев А. А. Фитотоксичность и ферментативная активность почв Калмыкии при нефтяном загрязнении //Юг России: экология, развитие. – 2017. – №. 4. – С. 147–156.
6. Булуктаев А. А. Фитотоксичность нефтезагрязненных почв аридных территорий (в условиях модельного эксперимента) //Russian Journal of Ecosystem Ecology. – 2019. – №. 3. – С. 59–68.
7. Булуктаев А. А., Адьянова А. Б., Джимбеев Н. В., Мукабенова Р. А., Манджиева С. С., Васильева Г. К. Использование натуральных органических сорбентов для повышения эффективности биоремедиации нефтезагрязненных почв республики Калмыкия //Вопросы степеведения. – 2023. – №. 4. – С. 146–161.
8. Булуктаев А. А., Сангаджиева Л. Х., Даваева Ц. Д. Влияние нефтедобывающего комплекса на свойства почв в зоне заповедного режима //Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. – 2015. – Т. 15. – №. 4. – С. 109–114.
9. Бурачевская М. В., Бауэр Т. В., Лобзенко И. П., Горовцов А. В., Вечканов Е. М., Плотников А. А., Барахов А. В., Федоренко Е. С., Замулина И. В., Минкина, Т. М. Влияние углеродистых сорбентов, полученных из растительного

сырья, на подвижность ионов  $zn$  в почве //Химия растительного сырья. – 2023. – №. 1. – С. 323–331.

10. Бурачевская М. В., Бауэр Т. В., Цицуашвили В. С., Лобзенко И. П., Барахов А. В., Погоньшев П. Д., Минкина Т. М. Инактивация меди в черноземе обыкновенном при внесении биочаров, полученных из разного сырья // Материалы IX Международной научно-практической конференции «Экологические проблемы. Взгляд в будущее» – 2020. – С. 92–98.

11. Вальков В. Ф., Казеев К. Ш., Колесников С. И. Методология исследования биологической активности почв (на примере Северного Кавказа) // Научная мысль Кавказа. 1999. №1. С. 32–37.

12. Вальков В. Ф., Казеев К. Ш., Колесников С. И. Почвы Юга России // Ростов-на-Дону: Изд-во «Эверест», 2008. 276 с.

13. Васильева Г. К., Стрижакова Е. Р., Бочарникова Е. А., Семенюк Н. Н., Яценко В. С., Слюсаревский А. В., Барышникова Е. А. Нефть и нефтепродукты как загрязнители почв. Технология комбинированной физико-биологической очистки загрязненных почв //Российский химический журнал. – 2013. – Т. 57. – №. 1. – С. 79–104.

14. Владимиров В. А. Разливы нефти: причины, масштабы, последствия //Стратегия гражданской защиты: проблемы и исследования. – 2014. – Т. 4. – №. 1. – С. 217–229.

15. Галкин В. И. Геология нефти и газа: учебно-методическое пособие / В.И. Галкин, О.Е. Кочнева // Пермь: Изд-во Перм. гос. техн. ун-та, 2011. – 113 с.

16. ГОСТ 17.1.4.01-80 Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к методам определения нефтепродуктов в природных и сточных водах. – М.: ИПК Издательство стандартов, 1983 – 3 с.

17. Даденко Е. В., Денисова Т. В., Казеев К.Ш., Колесников С. И. Оценка применимости показателей ферментативной активности в биодиагностике и

мониторинге почв // Поволжский экологический журнал. – 2013. – №4. – С. 385–393.

18. Даденко Е. В., Казеев К. Ш., Колесников С. И. Методы определения ферментативной активности почв. – Ростов-на-Дону: Издательство Южного федерального университета, 2021. – 174 с.

19. Денисова Т. В., Казеев К. Ш., Колесников С. И., Вальков В.Ф. Влияние гамма-излучения на биологические свойства почвы (на примере чернозема обыкновенного) // Почвоведение. 2005. № 7. С. 877–881.

20. Дмитриев Е. А. Математическая статистика в почвоведении / М.: Книжный дом Либроком, 2009. – 327 с.

21. Захарова С. С. Основные концепции происхождения нефти и газа // Наука и техника в Якутии. – 2003. – №. 1 (4). – С. 16–22.

22. Иваненко Н. В. Экологическая токсикология: Учебное пособие / Владивосток: Изд-во ВГУЭС, 2006. – 90 с.

23. Исакова Е. А. Особенности воздействия нефти и нефтепродуктов на почвенную биоту // Colloquium-journal. – 2019. – № 12 (36). – С. 7–10.

24. Казеев К. Ш., Колесников С. И., Акименко Ю. В., Даденко Е. В. Методы биодиагностики наземных экосистем / Ростов-на-Дону: Изд-во Южного федерального университета, 2016. – 356 с.

25. Казеев К. Ш., Лосева Е. С., Боровикова Л. Г., Колесников С. И. Влияние загрязнения современными пестицидами на биологическую активность чернозема обыкновенного // Агрехимия. 2010. № 11. С. 39–44.

26. Кизинёк С. В., Шильников И.А., Николаева И. И., Аканова Н. И. Эффективность новой формы нитроаммофоски в рисоводстве // Плодородие. 2013. №2 (71) – С. 10–12.

27. Кирий О. А. Экологическая оценка использования углеводородокисляющих бактерий при биоремедиации нефтезагрязненных почв и

вод на юге России: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08 / Кирий Оксана Аркадьевна. – Ростов-на-Дону, 2013. – 142 с.

28. Киреева Н. А. Биологическая активность нефтезагрязненных почв / Н.А. Киреева В.В. Водопьянов А.М. Мифтахова. – Уфа: Гилем, 2001. – 356 с.

29. Колесников С. И., Казеев К. Ш., Вальков В. Ф. Влияние загрязнения тяжелыми металлами на эколого-биологические свойства чернозема обыкновенного // Экология. 2000. – № 3. – С. 193–201.

30. Колесников С. И. Биологические принципы мониторинга и нормирования загрязнения почв / С. И. Колесников, К. Ш. Казеев, В. Ф. Вальков. – Ростов-на-Дону: ЦВВР, 2001. – 64 с.

31. Колесников С. И., Казеев К. Ш., Денисова Т. В., Даденко Е. В., Мазанко М. С., Ротина Е. Н. Методика оценки целесообразности и эффективности рекультивации почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, по биологическим показателям // Инженерный вестник Дона. – 2013. – Т. 26. – №. 3 (26). – С. 51.

32. Колесников С. И., Спивакова Н. А., Везденева Л. С., Кузнецова Ю. С., Казеев К. Ш. Влияния модельного загрязнения нефтью на биологические свойства почв сухих степей и полупустынь юга России // Аридные экосистемы. 2013. VI. 19. № 2(55). С. 70–76.

33. Комаровский Д. П., Воднева О. Л. Загрязнение нефтью почв. – 2011. – С. 221–224.

34. Коронелли Т. В. Принципы и методы интенсификации биологического разрушения углеводов в окружающей среде (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 1996. № 6. С. 579–585.

35. Кунавина Е. А. Анализ нефти и нефтепродуктов: учебное пособие / Е. А. Кунавина, Т. Р. Кочулева; Оренбургский гос. ун-т. – Оренбург: ОГУ, 2018. – 173 с.

36. Кутузова И. В., Колесников С., Казеев К. Ш., Акименко Ю. В., Козунь Ю. С., Мясникова М. А., Налета Е. В., Цалоева А. С., Черникова М. П. Динамика восстановления биологических свойств чернозема обыкновенного, загрязненного нефтью // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2014. – №. 104. – С. 582–591.
37. Логинов О. Н., Бойко Т. Ф., Костюченко В. П., Комаров С. И., Подцепихин А.К., Галимзянова Н. Ф. О биологической очистке технологических отвалов от нефтепродуктов // Почвоведение. 2002. № 4. С. 481–486.
38. Манучарова Н. А., Большакова М. А., Бабич Т. Л., Турова Т. П., Семенова Е. М., Янович А. С., Полтараус А. Б., Степанов А. Л., Назина Т. Н. Микроорганизмы дерново-подзолистой почвы, деградирующие нефть и полициклические ароматические углеводороды // Микробиология. – 2021. – Т. 90. – №. 6. – С. 706–717.
39. Манучарова Н. А., Ксенофонтова Н. А., Каримов Т. Д., Власова А. П., Зенова Г. М., Степанов, А. Л. Изменение филогенетической структуры метаболически активного прокариотного комплекса почв под влиянием нефтяного загрязнения // Микробиология. – 2020. – Т. 89. – №. 2. – С. 222–234.
40. Минкина Т. М., Барахов А. В., Бауэр Т. В., Лобзенко И. П., Лацынник Е. С. Эффективность использования углеродистых и минеральных сорбентов в техногенно загрязненном цинком черноземе // Актуальная биотехнология. – 2022. – №. 1. – С. 193–195.
41. Минкина Т. М., Колесников С. И., Вардуни Т. В. Снижение риска и уменьшение последствий загрязнения почв. Ростов-на-Дону: Печатная лавка, 2013. — 288 с.
42. Минникова Т. В. Влияние мелиорантов на биологическое состояние чернозема при нефтезагрязнении: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.08 / Минникова Татьяна Владимировна. – Ростов-на-Дону, 2018. – 107 с.

43. Минникова Т. В., Денисова Т. В., Колесников С. И. Влияние совместного воздействия переменных магнитных полей промышленной частоты 50 Гц и загрязнения никелем на ферментативную активность и фитотоксичность чернозема южного Керченского полуострова // Научный журнал КубГАУ – Scientific Journal of KubSAU. 2015. №112 С.684–695.

44. Минникова Т. В., Колесников С. И., Денисова Т. В. Влияние азотных и гуминовых удобрений на биохимическое состояние нефтезагрязненного чернозема // Юг России: экология, развитие. 2019а. №2. С.189-201.

45. Минникова Т. В., Колесников С. И., Казеев К. Ш., Акименко Ю. В. Влияние мелиорантов на биологическое состояние чернозема при нефтезагрязнении: монография / Ростов н/Д: ЮФУ, 2019б. – 92 с.

46. Минникова Т. В., Колесников С. И., Ревина С. Ю., Русева А. С. Оценка экологического состояния нефтезагрязненных почв после ремедиации: монография / Южный федеральный университет. – Ростов-на-Дону; Таганрог: Издательство Южного федерального университета, 2023а. – 104 с.

47. Минникова Т. В., Русева А. С. Экологическая оценка состояния чернозема, загрязненного нефтью, мазутом и бензином, при ремедиации гуматом натрия и «Байкал ЭМ-1» // Биодиагностика и экологическая оценка окружающей среды: современные технологии, проблемы и решения: материалы IV международного симпозиума (Москва, 28-31 августа 2023 г.) Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва: Научная библиотека МГУ, 2023, С.171-175.

48. Минникова Т. В. Русева А. С., Колесников С. И. Оценка ферментативной активности нефтезагрязненного чернозема после биоремедиации // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2022а. № 5. С. 5–20.

49. Минникова Т. В., Русева А. С., Колесников С. И., Ревина С.Ю., Гайворонский В.Г. Влияние биочара на экологическое состояние чернозема

обыкновенного при загрязнении нефтью, бензином и мазутом // *Агрохимия*. 2022b. №9. № 9, с. 86–96.

50. Минникова Т. В., Русева А. С., Колесников С. И., Труфанов Д. А. Численность бактерий в нефтезагрязненном черноземе обыкновенном после ремедиации // *Вестник Московского Университета. Серия 17. Почвоведение*. 2023b. № 3. с.65-75.

51. Никитин Б. А. Уточнение к методике определения гумуса в почве // *Агрохимия*, 1983, № 8. – С. 101–106.

52. Околелова А. А., Безуглова О. С., Кастерина Н. Г. Нефтепродукты в почве. Терминология и проблемы учета // *Живые и биокосные системы*. – 2013. – №. 4.

53. Орлов Д. С., Садовникова Л. К., Лозановская И. Н. Экология и охрана биосферы при химическом загрязнении. – 2002.

54. Пиковский Ю. И., Геннадиев А. Н., Чернянский С. С., Сахаров Г. Н. Проблема диагностики и нормирования загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами // *Почвоведение*. – 2003. – № 9. С. 1132–1140.

55. ПНД Ф 16.1:2.2.22-98. Количественный химический анализ почв. Методика выполнения измерений массовой доли нефтепродуктов в минеральных, органогенных, органоминеральных почвах и донных отложениях методом ИК-спектрометрии. – 1998. 12 с.

56. Поздняков Л. А., Степанов А. Л., Гасанов М. Э., Семенов М. В., Якименко О. С., Суада А. К., Рай А. Н., Щеголькова Н. М. Влияние лигногумата на биологическую активность почвы о. Бали, Индонезия // *Почвоведение*. – 2020. – №. 5. – С. 601–609.

57. Поконова Ю. В., Гайле А. А., Спиркин В. Г., Чертков Я. Б., Фахрутдинов Р. З., Сафиева, Р. З., Тахистов В. В., Батуева И. Ю. *Химия нефти*. – 1984. – 360 с.

58. Некрасова А. А., Привалов Д. М., Попова О. С., Привалова Н. М., Двадненко М.В. Воздействие нефти и нефтепродуктов на окружающую среду // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2017. – №. 125. – С. 309–318.

59. Русева А. С., Минникова Т. В., Колесников С. И., Ревина С. Ю., Евстегнеева Н.А., Труфанов Д.А. Влияние «Байкал ЭМ-1» на экологическое состояние чернозема обыкновенного при загрязнении нефтью, мазутом и бензином // Российская сельскохозяйственная наука. 2022а, № 4. С.3-10.

60. Русева А. С., Минникова Т. В., Колесников С. И. Активность дегидрогеназ нефтезагрязненной бурой лесной почвы после ремедиации // IV Международная научная конференция «Развитие водных транспортных магистралей в условиях глобального изменения климата на территории Российской Федерации (Евразии)»: сборник материалов, 2022b С. 320–322.

61. Рысбаева Г. А., Елеманова Ж. Р., Жаксыбек А. Н. Нефть как источник загрязнения окружающей среды // Современные научные исследования и разработки. – 2018. – №. 12. – С. 791–794.

62. Рябов В. Д. Химия нефти и газа / И-во: НИЦ ИНФРА-М, 2023. — 311 с.

63. Сангаджиева Л. Х., Сангаджиева О. С., Булуктаев А. А. Направленность изменений свойств почв нефтезагрязненных экосистем в аридных условиях Прикаспийской низменности // Экосистемы центральной Азии: исследование, сохранение, рациональное использование. – 2016. – С. 126–129.

64. Семенов М. В., Никитин Д. А., Степанов А. Л., Семенов В. М. Структура бактериальных и грибных сообществ ризосферного и внекорневого локусов серой лесной почвы // Почвоведение. – 2019. – №. 3. – С. 355–369.

65. Семенов В. М. Функции углерода в минерализационно-иммобилизационном обороте азота в почве // Агрохимия. – 2020. – №. 6. – С. 78–96.

66. Степанов А. Л., Манучарова Н. А., Семенов М. В., Никитин Д. А. Биология почв: достижения и перспективы развития // Почвы – стратегический ресурс России. – 2022. – С. 47–51.
67. Степанов А. А., Шульга П. С., Госсе Д. Д., Смирнова М. Е. Применение природных гуматов для ремедиации загрязненных городских почв и стимулирования роста растений // Вестник Московского университета. Серия 17. Почвоведение. 2018. – №. 2. – С. 30–34.
68. Сулейманов Р. Р., Шорина Т. С. Влияние нефтяного загрязнения на динамику биохимических процессов чернозема обыкновенного (Оренбургская область) // Известия Самарского Научного Центра РАН. 2012. Т.14. № 1. С. 240–243.
69. Тарчигина Н. Ф., Харичев О. Е., Капралова Н. С., Шаймурзина К. И. Некоторые аспекты технологических решений производства нитроаммофоски и повышения эффективности использования вторичных ресурсов посредством введения карбоната кальция в плавы // Вестник евразийской науки. 2015. №5 (30). – С. 163.
70. Титова И. Н. Гуматы и почва / Москва: ИЛКО, 2006. – 28 с.
71. Трофимов С. Я., Аммосова Я. М., Орлов Д. С., Осипова Н. Н., Суханов Н. И. Влияние нефти на почвенный покров и проблема создания нормативной базы по влиянию нефтезагрязнения на почвы // Вестник Московского университета. – 2000. – Сер. 17. Почвоведение. № 2. С. 30–34.
72. Трофимов С. С., Таранов С.А. Особенности почвообразования в техногенных экосистемах // Почвоведение, 1987 – С.112-113.
73. Трошкова Г. П., Емельянова Е. К., Карабинцева Н. О. Экологическая биотехнология: учебное пособие / Новосибирский государственный медицинский университет. – Новосибирск: Сибмедиздат НГМУ, 2011. – 144 с.
74. Федотова Л. С., Визирская М. М., Тимошина Н. А., Князева Е. В. Эффективность применения различных форм нитроаммофосок, азотных и

водорастворимых NPK-удобрений при возделывании картофеля //Международный сельскохозяйственный журнал. – 2022. – №. 2. – С. 200–204.

75. Хаустов А. П., Редина М. М. Охрана окружающей среды при добыче нефти / М.: Дело, 2006. — 552 с.

76. Чачина С. Б., Болтунова С. В. Биологическая рекультивация нефтезагрязненных почв с использованием микробиологических препаратов «Байкал-ЭМ», «Тамир», «Восток» //Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 11–2. – С. 274–276.

77. Чачина С. Б., Верба Е. Ю. Биологическая рекультивация почв, загрязненных мазутом, с использованием вермикультуры дождевых червей *Dendrobena veneta* и микробиологических препаратов «Байкал-Эм», «Тамир», «Восток» //Экология и строительство. 2018. № 3. С. 27–35.

78. Чердакова А. С., Гальченко С. В. Изменение фитотоксичности почв, загрязненных нефтепродуктами, в процессе их микробиологической ремедиации при внесении гуминовых препаратов //Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. – 2020. – Т. 28. – №. 4. – С. 336–348.

79. Чукин Г. Д., Алаторцев Е. И., Леонтьева С. А. Происхождение нефти: новый взгляд //Нефтепереработка и нефтехимия. Научно-технические достижения и передовой опыт. – 2016. – №. 7. – С. 17–22.

80. Шамраев А. В., Шорина Т. С. Влияние нефти и нефтепродуктов на различные компоненты окружающей среды //Вестник Оренбургского государственного университета. – 2009. – №. 6. – С. 642–645.

81. Шигапов А. М. Биоремедиация нефтезагрязненных почв органическими компонентами отходов лесозаготовительной промышленности (на примере дерново-подзолистых почв Уральского федерального округа): дис... канд. биол. наук: 03.02.08 / Шигапов Айрат Минимарсильевич. – Екатеринбург., 2016. – 228 с.

82. Яковлев А. Л., Савенок О. В. Нарушения экологической безопасности при интенсификации добычи нефти на месторождениях Краснодарского края // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – 2017. – № 1. – С. 50–54.
83. Янгубаева В.К., Никитина В.С. Выделение штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов из нефтезагрязненной почвы и препарата «Байкал ЭМ-1» //Перспективы развития научных исследований в 21 веке: сборник материалов 12-й международной науч.-практик. конфи.– Махачкала: Издательство «Апробация», 2016 – С.14-16.
84. Янкевич М. И., Хадеева В. В., Мурыгина В. П. Биоремедиация почв: вчера, сегодня, завтра //Биосфера. – 2015. – Т. 7. – №. 2. – С. 199–208.
85. Abu-Khasan M. Analysis of soil contamination with oil and petroleum products //International Scientific Siberian Transport Forum. – Cham: Springer International Publishing, 2021. – P. 1514-1522.
86. Adedokun O. M., Ataga A. E. Oil spills remediation using native mushroom-a viable option //Research Journal of Environmental Sciences. – 2014. – V. 8. – №. 1. – P. 57.
87. Ahmad A. A., Muhammad I., Shah T., Kalwar Q., Zhang J., Liang Z., Mei D., Juanshan Z., Yan P., Zhi D. X., Rui-Jun L. Remediation methods of crude oil contaminated soil //World Journal of Agriculture and Soil Science. – 2020. – V. 4. – №. 3. – P. 8.
88. Ahmed F., Fakhruddin A.N.M. A review on environmental contamination of petroleum hydrocarbons and its biodegradation //International Journal of Environmental Sciences & Natural Resources. – 2018. – V. 11. – №. 3. – pp. 1-7.
89. Al-Mutairi N., Bufarsan A., Al-Rukaibi F. Ecorisk evaluation and treatability potential of soils contaminated with petroleum hydrocarbon-based fuels //Chemosphere. – 2008. – V. 74. – №. 1. – P. 142-148.
90. Álvarez A. M., Carral P., Hernández Z., Almendros G. Hydrocarbon pollution from domestic oil recycling industries in peri-urban soils. Lipid molecular

assemblages //Journal of environmental chemical engineering. – 2016. – V. 4. – №. 1. – P. 695-703.

91. Azubuiké C. C., Chikere C. B., Okpokwasili G. C. Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects //World Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2016. – v. 32. – P. 1-18.

92. Badía D., Aguirre J. A., Martí C., Márquez M. A. Sieving effect on the intensity and persistence of water repellency at different soil depths and soil types from NE-Spain //Catena. – 2013. – V. 108. – P. 44-49.

93. Bao J., Lv Y., Liu C., Li S., Yin Z., Yu Y., Zhu L. Performance evaluation of rhamnolipids addition for the biodegradation and bioutilization of petroleum pollutants during the composting of organic wastes with waste heavy oil //Iscience. – 2022. – V. 25. – №. 6.

94. Baoune H., Ould El Hadj-Khelil A., Pucci G., Sineli P., Loucif L., Polti M.A. (2018) Petroleum degradation by endophytic *Streptomyces* spp. Isolated from plants grown in contaminated soil of southern Algeria //Ecotoxicology and environmental safety. – 2018. – V. 147. – P. 602-609.

95. Barakhov A., Chernikova N., Dudnikova T., Barbashev A., Sushkova S., Mandzhieva S., Rajput V., Kızılkaya R., Konstantinova E., Bren D., Minkina T. Role of sorbents in early growth of barley under copper and benzo (a) pyrene contaminated soils //Eurasian Journal of Soil Science. – 2023. – V. 12. – №. 1. – P. 1-9.

96. Bayramova R.A. Impact of oil pollution on soil fertility // East European Scientific Journal. – 2021. – №. 10-2 (74). – P. 40-42.

97. Batelle C.D. Mushrooms: Higher Macrofungi to clean up the environment //Environmental Issues, Fall. – 2000. – №. 13, P. 416–423.

98. Beesley L., Moreno-Jiménez E., Gomez-Eyles J. L., Harris E., Robinson B., Sizmur T. A review of biochars' potential role in the remediation, revegetation and

restoration of contaminated soils //Environmental pollution. – 2011. – V. 159. – №. 12. – P. 3269-3282.

99. Bento F. M., Camargo F. A., Okeke B. C., Frankenberger W. T. Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation //Bioresource technology. – 2005. – V. 96. – №. 9. – P. 1049-1055.

100. Bourguignon N., Bargiela R., Rojo D., Chernikova T. N., de Rodas SAL, García-Cantalejo J., Näther D. J., Golyshin P. N., Barbas C., Ferrero M., Ferrer M. Insights into the degradation capacities of *Amycolatopsis tucumanensis* DSM 45259 guided by microarray data //World Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2016. – V. 32. – P. 1-12.

101. Broniatowski M., Binczycka M., Wójcik A., Flasiński M., Wydro P. Polycyclic aromatic hydrocarbons in model bacterial membranes–Langmuir monolayer studies //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes. – 2017. – V. 1859. – №. 12. – P. 2402-2412.

102. Borowik A., Wyszowska J. Remediation of soil contaminated with diesel oil //Journal of Elementology. – 2018. – V. 23. – №. 2.

103. Buzmakov S., Egorova D., Gatina E. Effects of crude oil contamination on soils of the Ural region //Journal of Soils and Sediments. – 2019. – V. 19. – P. 38-48.

104. Schaefer M. Earthworms in crude oil contaminated soils: toxicity tests and effects on crude oil degradation //Soil, Sediment and Water. – 2001. – V. 8. – P. 35-37.

105. Chaillan F., Le Flèche A., Bury E., Phantavong Y. H., Grimont P., Saliot A., Oudot J. Identification and biodegradation potential of tropical aerobic hydrocarbon-degrading microorganisms //Research in microbiology. – 2004. – V. 155. – №. 7. – P. 587-595.

106. Chandra S., Sharma R., Singh K., Sharma A. Application of bioremediation technology in the environment contaminated with petroleum hydrocarbon //Annals of microbiology. – 2013. – V. 63. – №. 2. – P. 417-431.

107. Chaudhary D. K., Bajagain R., Jeong S. W., Kim J. Development of a bacterial consortium comprising oil-degraders and diazotrophic bacteria for elimination of exogenous nitrogen requirement in bioremediation of diesel-contaminated soil //World Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2019. – V. 35. – P. 1-11.
108. Chen S., Zhong M. Bioremediation of petroleum-contaminated soil //Environmental Chemistry and Recent Pollution Control Approaches. – 2019. – V. 34. – P. 1-12.
109. Chorom M., Sharifi H. S., Motamedi H. Bioremediation of a crude oil-polluted soil by application of fertilizers. – 2010. – P.319-326.
110. Das N., Chandran P. Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview //Biotechnology research international. – 2011. – V. 2011. – P.110–123.
111. Das S., Kuppanan N., Channashettar V.A., Lal B. Remediation of oily sludge-and oil-contaminated soil from petroleum industry: recent developments and future prospects //Advances in Soil Microbiology: Recent Trends and Future Prospects: Volume 1: Soil-Microbe Interaction. – 2018. – P. 165-177.
112. Dekker L.W. Moisture variability resulting from water repellency in Dutch soils / 1998 – Wageningen, 240 p.
113. Dell’Anno F., Rastelli E., Sansone C., Brunet C., Ianora A., Dell’Anno A. Bacteria, fungi and microalgae for the bioremediation of marine sediments contaminated by petroleum hydrocarbons in the omics era //Microorganisms. – 2021. – V. 9. – №. 8. – P. 1695.
114. Dike C. C., Shahsavari E., Surapaneni A., Shah K., Ball A. S. Can biochar be an effective and reliable biostimulating agent for the remediation of hydrocarbon-contaminated soils? //Environment International. – 2021. – V. 154. – P. 106553.
115. Ding Y., Liu Y., Liu S., Li Z., Tan X., Huang X., Zeng G., Zhou, L., Zheng B. Biochar to improve soil fertility. A review //Agronomy for sustainable development. – 2016. – V. 36. – P. 1-18.

116. Ding K., Wu Q., Wei H., Yang W., Séré G., Wang S., Echevarria G., Tang Y., Tao J., Morel J.L., Qiu R. Ecosystem services provided by heavy metal-contaminated soils in China //Journal of soils and sediments. – 2018. – V. 18. – P. 380-390.
117. Doerr S. H. On standardizing the ‘water drop penetration time’ and the ‘molarity of an ethanol droplet’ techniques to classify soil hydrophobicity: a case study using medium textured soils //Earth Surface Processes and Landforms: The Journal of the British Geomorphological Group. – 1998. – V. 23. – №. 7. – P. 663-668.
118. Doran J. W., Sarrantonio M., Liebig M. A. Soil health and sustainability //Advances in Agronomy – 1996. – P.1-54.
119. Dos Santos J. J., Maranhão L. T. Rhizospheric microorganisms as a solution for the recovery of soils contaminated by petroleum: A review //Journal of environmental management. – 2018. – V. 210. – P. 104-113.
120. Feng L., Jiang X., Huang Y., Wen D., Fu T., Fu R. Petroleum hydrocarbon-contaminated soil bioremediation assisted by isolated bacterial consortium and sophorolipid //Environmental Pollution. – 2021. – V. 273. – P. 116476.
121. Fine P., Graber E. R., Yaron B. Soil interactions with petroleum hydrocarbons: abiotic processes //Soil Technology. – 1997. – V. 10. – №. 2. – P. 133-153.
122. Ghosh I., Jasmine J., Mukherji S. Biodegradation of pyrene by a *Pseudomonas aeruginosa* strain RS1 isolated from refinery sludge //Bioresource technology. – 2014. – V. 166. – P. 548-558.
123. Gordon G., Stavi I., Shavit U., Rosenzweig R. Oil spill effects on soil hydrophobicity and related properties in a hyper-arid region //Geoderma. – 2018. – V. 312. – P. 114-120.
124. Gorovtsov A. V., Minkina T. M., Mandzhieva S. S., Perelomov L. V., Soja G., Zamulina I. V., Rajput V. D., Sushkova S. N., Mohan D., Yao J. The mechanisms of

biochar interactions with microorganisms in soil //Environmental Geochemistry and Health. – 2020. – V. 42. – P. 2495-2518.

125. Harper R. J., Gilkes R. J. Soil attributes related to water repellency and the utility of soil survey for predicting its occurrence //Soil Research. – 1994. – V. 32. – №. 5. – C. 1109-1124.

126. Havugimana E., Bhople B. S., Kumar A. N. I. L., Byiringiro E. M. M. A. N. U. E. L., Mugabo J. P., Kumar, A. R. U. N. Soil pollution—major sources and types of soil pollutants //Environmental science and engineering. – 2017. – V. 11. – P. 53-86.

127. Hisamuddin N.H., Jalaludin J., Abu Bakar S., Latif M.T. The Influence of Environmental Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Exposure on DNA Damage among School Children in Urban Traffic Area, Malaysia //Int. J. Environ. Res. Public Health – 2022. – V. 19. – №. 4. – P. 2193.

128. Hoang S. A., Lamb D., Seshadri B., Sarkar B., Choppala G., Kirkham M.B., Bolan N.S. Rhizoremediation as a green technology for the remediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soils //Journal of Hazardous Materials. – 2021. – V. 401. – P. 123282.

129. Hou D., Al-Tabbaa A. Sustainability: A new imperative in contaminated land remediation //Environmental Science & Policy. – 2014. – V. 39. – P. 25-34.

130. Ite A. E., Ibok U. J. Role of plants and microbes in bioremediation of petroleum hydrocarbons contaminated soils //International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation. – 2019. – V. 7. – №. 1. – P. 1-19.

131. Jameel A. G. A., Han Y., Brignoli O., Telalović S., Elbaz A. M., Im H. G., Roberts W. L., Sarathy S. M. Heavy fuel oil pyrolysis and combustion: Kinetics and evolved gases investigated by TGA-FTIR //Journal of analytical and applied pyrolysis. – 2017. – V. 127. – P. 183-195.

132. Jiang N., Wu M., Li G., Petropoulos E., Sun F., Wang X., Li Z. Humic substances suppress *Fusarium oxysporum* by regulating soil microbial community in the

rhizosphere of cucumber (*Cucumis sativus* L.) // *Applied Soil Ecology*. – 2022. 174 – P. 104389.

133. Joseph S., Cowie A. L., Van Zwieten L., Bolan N., Budai A., Buss W., Cayuela M. L., Graber E. R., Ippolito J. A., Kuzyakov Y., Luo Y., Ok Y. S., Palansooriya K. N., Shepherd J., Stephens S., Weng Z. H., Lehmann J. How biochar works, and when it doesn't: A review of mechanisms controlling soil and plant responses to biochar // *Gcb Bioenergy*. – 2021. – V. 13. – №. 11. – P. 1731-1764.

134. Kalhor A. X., Movafeghi A., Mohammadi-Nassab A. D., Abedi E., Bahrami A. Potential of the green alga *Chlorella vulgaris* for biodegradation of crude oil hydrocarbons // *Marine pollution bulletin*. – 2017. – V. 123. – №. 1-2. – P. 286-290.

135. Kaczyńska G., Borowik A., Wyszowska J. Soil dehydrogenases as an indicator of contamination of the environment with petroleum products // *Water, Air, & Soil Pollution*. – 2015. – V. 226. – P. 1-11.

136. Khan S., Afzal M., Iqbal S., Khan Q. M. Plant–bacteria partnerships for the remediation of hydrocarbon contaminated soils // *Chemosphere*. – 2013. – V. 90. – №. 4. – P. 1317-1332.

137. Khelfi A. Sources of soil pollution // *Handbook of Research on Microbial Tools for Environmental Waste Management*. – IGI Global, 2018. – P. 190-218.

138. Kong F., Sun G., Liu Z. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil mesocosms by microbial/plant bioaugmentation: performance and mechanism // *Chemosphere*. – 2018. – V. 198. – P. 83-91.

139. Korneykova M. V., Myazin V. A., Fokina N. V. Restoration of Oil-Contaminated Soils in Mountain Tundra (Murmansk Region, Russia) // *Smart and Sustainable Cities Conference*. – Springer, Cham, 2018. – P. 187-198.

140. Lee S. H., Lee J. H., Jung W. C., Park M., Kim M. S., Lee S. J., Park H. Changes in soil health with remediation of petroleum hydrocarbon contaminated soils using two different remediation technologies // *Sustainability*. – 2020. – V. 12. – №. 23. – P. 10078.

141. Lei A.P., Hu Z.L., Wong Y.S., Tam N. F. Y. Removal of fluoranthene and pyrene by different microalgal species //Bioresource technology. – 2007. – V. 98. – №. 2. – P. 273-280.
142. Li S., Wang P., Zhang C., Zhou X., Yin Z., Hu T., Hu D., Liu C., Zhu L. Influence of polystyrene microplastics on the growth, photosynthetic efficiency and aggregation of freshwater microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* //Science of the Total Environment. – 2020. – V. 714. – P. 136767.
143. Liu Q., Wang Y., Sun S., Tang F., Chen H., Chen S., Zhao C., Li L. A novel chitosan-biochar immobilized microorganism strategy to enhance bioremediation of crude oil in soil //Chemosphere. – 2023. – V. 313. – P. 137367.
144. Lomza P., Poszytek K., Sklodowska A., Drewniak L. Evaluation of bioremediation of soil highly contaminated by petroleum hydrocarbons //New Biotechnology. – 2016. – №. 33. – P. S141.
145. Looney B. Statistical review of world energy, 2020 //Bp. – 2020. – V. 69. – P. 66.
146. Lv Y., Bao J., Zhu L.A. A comprehensive review of recent and perspective technologies and challenges for the remediation of oil-contaminated sites //Energy Reports. – 2022. – V. 8. – P. 7976-7988.
147. Lv Y., Bao J., Dang Y., Liu D., Li T., Li S., Yu Y., Zhu L. Biochar aerogel enhanced remediation performances for heavy oil-contaminated soil through biostimulation strategy //Journal of Hazardous Materials. – 2023. – V. 443. – P. 130209.
148. Marinescu M., Toti M., Veronica T., Carabulea V., Georgiana P., Plopeanu G., Calciu I. An assessment of the effects of crude oil pollution on soil properties //Ann. Food Sci. Technol. – 2010. – V. 11. – pp. 94-99.
149. Martinkosky L., Barkley J., Sabadell G., Gough H., Davidson S. Earthworms (*Eisenia fetida*) demonstrate potential for use in soil bioremediation by increasing the degradation rates of heavy crude oil hydrocarbons //Science of the total environment. – 2017. – V. 580. – P. 734-743.

150. Masy T., Demanèche S., Tromme O., Thonart P., Jacques, P., Hiligsmann S., Vogel T. M. Hydrocarbon biostimulation and bioaugmentation in organic carbon and clay-rich soils //Soil Biology and Biochemistry. – 2016. – V. 99. – P. 66-74.
151. Meynet P., Moliterni E., Davenport R.J., Sloan W.T., Camacho J.V., Werner D. Predicting the effects of biochar on volatile petroleum hydrocarbon biodegradation and emanation from soil: a bacterial community finger-print analysis inferred modelling approach //Soil Biology and Biochemistry. – 2014. – V. 68. – P. 20-30.
152. Michael-Igolima U., Abbey S. J., Ifelebuegu A. O. A systematic review on the effectiveness of remediation methods for oil contaminated soils //Environmental Advances. – 2022. – P. 100319.
153. Minnikova T., Kolesnikov S., Ruseva A., Kazeev K., Minkina T., Mandzhieva S., Sushkova S. Influence of the biochar on petroleum hydrocarbon degradation intensity and ecological condition of Haplic Chernozem //Eurasian Journal of Soil Science. – 2022. – V. 11. – №. 2. – P. 157-166.
154. Onwurah I.N.E. Technical communication: modelling the rates of biodegradation, nitrogen fixation and uptake of fixed nitrogen during bioremediation of crude oil-contaminated environments //World Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2004. – V. 20. – pp. 833-836.
155. Ossai I. C., Ahmed A., Hassan A., Hamid F. S. Remediation of soil and water contaminated with petroleum hydrocarbon: A review //Environmental Technology & Innovation. – 2020. – V. 17. – P. 100526.
156. Pal S., Patra A. K., Reza S. K., Wildi W., Pote-Wembonyama, J. Use of bio-resources for remediation of soil pollution //Natural Resources. – 2010. – V. 1. – №. 2. – pp. 110-125.
157. Papageorgiou A., Azzi E.S., Enell A., Sundberg C. Biochar produced from wood waste for soil remediation in Sweden: Carbon sequestration and other

environmental impacts //Science of the Total Environment. – 2021. – V. 776. – P. 145953.

158. Patel A. B., Mahala K., Jain K., Madamwar D. Development of mixed bacterial cultures DAK11 capable for degrading mixture of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) //Bioresource technology. – 2018. – V. 253. – P. 288-296.

159. Patowary R., Patowary K., Kalita M. C., Deka S. Application of biosurfactant for enhancement of bioremediation process of crude oil contaminated soil //International Biodeterioration & Biodegradation. – 2018. – V. 129. – P. 50-60.

160. Piehler M. F., Swistak J. G., Pinckney J. L., Paerl H. W. Stimulation of diesel fuel biodegradation by indigenous nitrogen fixing bacterial consortia //Microbial Ecology. – 1999. – V. 38. – pp. 69-78.

161. Polyak Y. M., Bakina L. G., Chugunova M. V., Mayachkina N. V., Gerasimov A. O., Bure V. M. Effect of remediation strategies on biological activity of oil-contaminated soil-A field study //International Biodeterioration & Biodegradation. – 2018. – V. 126. – P. 57-68.

162. Rao M. A., Scelza R., Acevedo F., Diez M. C., Gianfreda L. Enzymes as useful tools for environmental purposes //Chemosphere. – 2014. – V. 107. – P. 145-162.

163. Remelli S., Rizzo P., Celico F., Menta C. Natural surface hydrocarbons and soil faunal biodiversity: A bioremediation perspective //Water. – 2020. – V. 12. – №. 9. – P. 2358.

164. Ren H. Y., Wei Z. J., Wang Y., Deng Y. P., Li M. Y., Wang B. Effects of biochar properties on the bioremediation of the petroleum-contaminated soil from a shale-gas field //Environmental Science and Pollution Research. – 2020. – V. 27. – P. 36427-36438.

165. Rodgers J. D., Bunce N. J. Treatment methods for the remediation of nitroaromatic explosives //Water Research. – 2001. – V. 35. – №. 9. – P. 2101-2111.

166. Roldán A., Salinas-García J. R., Alguacil M. M., Díaz E., Caravaca F. Soil enzyme activities suggest advantages of conservation tillage practices in sorghum cultivation under subtropical conditions // *Geoderma*. 2005. V. 129(3–4), P. 178–185.
167. Ruffini Castiglione M., Giorgetti L., Becarelli S., Siracusa G., Lorenzi R., Di Gregorio S. Polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soils: bioaugmentation of autochthonous bacteria and toxicological assessment of the bioremediation process by means of *Vicia faba* L // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2016. – V. 23. – P. 7930-7941.
168. Ruseva A., Minnikova T., Kolesnikov S., Trufanov D., Minin N., Revina S., Gayvoronsky V. Assessment of the ecological state of haplic chernozem contaminated by oil, fuel oil and gasoline after remediation // *Petroleum Research*. – 2023a.
169. Ruseva A., Minnikova T., Kolesnikov S., Revina S., Trushkov A. Ecological State of Haplic Chernozem after Pollution by Oil at Different Levels and Remediation by Biochar // *Sustainability*. – 2023b. – V. 15. – №. 18. – P. 13375.
170. Rushton D. G., Ghaly A. E., Martinell K. Assessment of Canadian regulations and remediation methods for diesel oil contaminated soils. – 2007. – V. 4. – P. 465-578.
171. Saeed M., Ilyas N., Jayachandran K., Gaffar S., Arshad M., Ahmad M. S., Bibi F., Jeddi K., Hessini K. Biostimulation potential of biochar for remediating the crude oil contaminated soil and plant growth // *Saudi Journal of Biological Sciences*. – 2021. – V. 28. – №. 5. – P. 2667-2676.
172. Sales da Silva I. G., Gomes de Almeida F. C., Padilha da Rocha e Silva N. M., Casazza A. A., Converti A., Asfora Sarubbo L. Soil bioremediation: Overview of technologies and trends // *Energies*. – 2020. – V. 13. – №. 18. – P. 4664.
173. Sambuu G., Gantumur H., Kharitonova G.V. Soils pollution with oil products (Ulaanbaatar, Mongolia) // *Biogeosystem Technique*. – 2018. – №. 5. – P. 129-140.

174. Sivkov Y., Nikiforov A. Study of oil-contaminated soils phytotoxicity during bioremediation activities //Journal of Ecological Engineering. – 2021. – V. 22. – №. 3. – P. 67-72.
175. Sanchez-Hernandez J. C., Ro K. S., Díaz F. J. Biochar and earthworms working in tandem: Research opportunities for soil bioremediation //Science of the total environment. – 2019. – V. 688. – P. 574-583.
176. Solomon L., Ogugbue C., Okpokwasili G. Inherent Bacterial Diversity and Enhanced Bioremediation of an Aged Crude Oil-Contaminated Soil in Yorla, Ogoni Land Using Composted Plant Biomass //Journal of Advances in Microbiology. – 2018. – V. 9. – №. 3. – P. 1-11.
177. Sri Ranjan R., Qian Y., Krishnapillai M. Effects of electrokinetics and cationic surfactant cetyltrimethylammonium bromide on the hydrocarbon removal and retention from contaminated soils //Environmental technology. – 2006. – V. 27. – №. 7. – P. 767-776.
178. Stepanova A. Y., Gladkov E. A., Osipova E. S., Gladkova O. V., Tereshonok D. V. Bioremediation of soil from petroleum contamination //Processes. – 2022. – V. 10. – №. 6. – P. 1224.
179. Surampalli R. Y., Ong S. K., Seagren E., Nuno J., Banerji S. (Eds.) Natural attenuation of hazardous wastes. – ASCE Publications, 2004.
180. Tang J. C., Wang R. G., Niu X. W., Wang M., Chu H. R., Zhou Q. X. Characterisation of the rhizoremediation of petroleum-contaminated soil: effect of different influencing factors //Biogeosciences. – 2010. – V. 7. – №. 12. – P. 3961-3969.
181. Thenmozhi R., Arumugam K., Nagasathya A., Thajuddin N., Paneerselvam A. Studies on mycoremediation of used engine oil contaminated soil samples //Adv Appl Sci Res. – 2013. – V. 4. – №. 2. – P. 110-118.
182. Toccalino P. L., Norman J. E. Health-based screening levels to evaluate US Geological Survey ground water quality data //Risk Analysis. – 2006. – V. 26. – №. 5. – P. 1339-1348.

183. Tran H. T., Lin C., Bui X. T., Ngo H. H., Cheruiyot N. K., Hoang H. G., Vu C. T. Aerobic composting remediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil. Current and future perspectives //Science of the Total Environment. – 2021. – V. 753. – P. 142250.
184. Trindade P. V. O., Sobral L. G., Rizzo A. C. L., Leite S. G. F., Soriano A. U. Bioremediation of a weathered and a recently oil-contaminated soils from Brazil: a comparison study //Chemosphere. – 2005. – V. 58. – №. 4. – pp. 515-522.
185. Varjani S. J. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons //Bioresource technology. – 2017. – V. 223. – P. 277-286.
186. Vasilyeva G., Mikhedova E., Zinnatshina L., Strijakova E., Akhmetov L., Sushkova S., Ortega-Calvo J.J. Use of natural sorbents for accelerated bioremediation of grey forest soil contaminated with crude oil //Science of The Total Environment. – 2022. – V. 850. – P. 157952.
187. 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. – V. 23. – P. 708-715.
188. Wang P., Liu X., Wu X., Xu J., Dong F., Zheng Y., Evaluation of biochars in reducing the bioavailability of flubendiamide in water/sediment using passive sampling with polyoxymethylene. J. Hazard. Mater. 2018. 344, 1000–1006.
189. Wang J., Wang S., Preparation, modification and environmental application of biochar: a review. J. Clean. Prod. 2019. 227, 1002–1022.
190. Widdel F., Rabus R. Anaerobic biodegradation of saturated and aromatic hydrocarbons //Current opinion in biotechnology. – 2001. – V. 12. – №. 3. – P. 259-276.
191. Wolicka D., Suszek A., Borkowski A., Bielecka A. Application of aerobic microorganisms in bioremediation in situ of soil contaminated by petroleum products //Bioresource Technology. – 2009. – V. 100. – №. 13. – P. 3221-3227.

192. World Reference Base for Soil Resources 2014. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources Reports № 106. FAO, Rome, 2014. 181 p.
193. 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. – V. 107. – pp. 158-164.
194. Ye S. J., Zeng G. M., Wu H. P., Zhang C., Liang J., Dai J., Liu Z., Xiong W. P., Wan J., Xu P., Cheng M. Co-occurrence and interactions of pollutants, and their impacts on soil remediation—a review. Crit. Rev. Environ. Sci. Technol. 2017. 47, 1528–1553.
195. Yin D., Wang X., Peng B., Tan C., Ma L.Q., Effect of biochar and Fe-biochar on Cd and As mobility and transfer in soil-rice system. Chemosphere 2017. 186, 928–937.
196. Zahermand S., Vafaeian M., Hosein Bazayar M. Analysis of the physical and chemical properties of soil contaminated with oil (petroleum) hydrocarbons //Earth sciences research journal. – 2020. – V. 24. – №. 2. – P. 163-168.
197. Zhang N., He X., Gao Y., Li Y., Wang H., Ma D., Zhang R., Yang S. Pedogenic Carbonate and Soil Dehydrogenase Activity In Response To Soil Organic Matter in *Artemisia ordosica* Community // Pedosphere. – 2010. – V. 20. – P. 229–235.
198. Zhang C., Wu D., Ren H. Bioremediation of oil contaminated soil using agricultural wastes via microbial consortium //Scientific Reports. – 2020. – V. 10. – №. 1. – P. 9188.
199. Zhichkina L. N., Nosov V. V., Zhichkin K. A., Bespamjatnova L. P., Grunina O. A., Grunina A. A. Analysis of anthropogenic contamination of soils by petroleum products //IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. – IOP Publishing, 2020. – V. 919. – №. 6. – P. 062064.

200. Zhu X., Chen B., Zhu L., Xing B. Effects and mechanisms of biochar-microbe interactions in soil improvement and pollution remediation: a review //Environmental pollution. – 2017. – V. 227. – P. 98-115.

201. Zhu L., Yan C., Li Z. Microalgal cultivation with biogas slurry for biofuel production //Bioresource technology. – 2016. – V. 220. – P. 629-636.