

УДК 631.465:631.445.41:632.122.2

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ЧЕРНОЗЕМОВИДНОЙ ПОЧВЫ ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ НЕФТЬЮ И ДИЗЕЛЬНЫМ ТОПЛИВОМ

© 2024 г. О. А. Пилецкая*

*Институт геологии и природопользования Дальневосточного отделения РАН**675000 Благовещенск, п. Релочный, 1, Россия***E-mail: olgapiletskaya1988@gmail.com*

В лабораторном опыте изучили влияние нефтяного загрязнения на краткосрочную динамику активности уреазы, фосфатазы, каталазы, пероксидазы и полифенолоксидазы черноземовидной почвы юга Дальнего Востока. Установлено, что при загрязнении почвы нефтью и нефтепродуктами активность уреазы снизилась на 20–44% в конце инкубации, активность пероксидазы повысилась на 39–49% в середине и конце инкубации, активность полифенолоксидазы возросла в 1.6–2.0 раза в середине инкубации. Активность фосфатазы и каталазы была стабильной при разных уровнях загрязнения на протяжении всего эксперимента. Исследуя влияние срока инкубации, установили, что максимальной активность уреазы была на 10-е сут, фосфатазы – на 20-е, пероксидазы – на 20- и 30-е, полифенолоксидазы – на 30-е сут опыта. Активность каталазы была стабильной на протяжении всех сроков инкубации. Показано, что в случае загрязнения черноземовидной почвы нефтью и дизельным топливом в дозах до 5000 мг/кг на ранних этапах ингибирование ферментативной активности не происходило.

Ключевые слова: черноземовидная почва, загрязнение нефтепродуктами, ферментативная активность, срок инкубации, Дальний Восток.

DOI: 10.31857/S0002188124120107, **EDN:** VURFZE

ВВЕДЕНИЕ

Загрязнение нефтью и нефтепродуктами влияет на морфологические, физические, физико-химические, биологические свойства почв, определяющие плодородие и экологические функции. Изменения свойств почвы при загрязнении нефтью, а также процессы ее миграции, аккумуляции и метаболизма зависят от физико-химического состава почвы, биологической активности, объема загрязнения, почвенно-климатических, ландшафтных условий, типа почвы, наличия тех или иных биохимических барьеров, каналов миграции и диффузии в почвенном профиле [1, 2]. При этом наиболее быстро и специфично реагируют на нефтяное загрязнение почвы микробиологическая и ферментативная активность – уже на начальных стадиях загрязнения могут изменяться состав, численность микроорганизмов, их метаболизм, активность почвенных ферментов [3].

Попадая в почву нефть и нефтепродукты подвергаются микробиологическому разложению [4]. Это происходит за счет 2-х факторов: наличия сложных ферментов – оксидоредуктаз, осуществляющих окислительно-восстановительные процессы, гидролаз, осуществляющих процессы расщепления высокомолекулярных органических соединений и наличия

в клетках приспособлений, обеспечивающих поглощение гидрофобного субстрата [1, 5]. Учитывая, что окислительно-восстановительные и гидролитические процессы в почве протекают одновременно, и часть энергии, образованной в одних реакциях, используется в других, при биодиагностике загрязнения почв необходимо одновременно проводить определение активности данных групп ферментов.

Основная функция ферментов в загрязненных почвах заключается в трансформации поллютантов до простых и менее токсичных продуктов. Почвенные ферменты активно участвуют в процессах трансформации органических остатков как в течение жизни, так и после отмирания микроорганизмов [6, 7]. Наиболее чувствительны к загрязнению почвы нефтью и нефтепродуктами из оксидоредуктаз – каталаза, пероксидаза, полифенолоксидаза, из гидролаз – ферменты, формирующие азотный режим почвы – уреазы и фосфорный режим – фосфатаза [4, 8–10].

Сельскохозяйственные почвы подвержены загрязнению нефтью и нефтепродуктами в результате использования техники, применения инсектицидов на основе нефтяного масла, удобрения почвы с использованием компостов бытовых отходов, сброса и разливов отработанных масел, дорожных аварий,

при порыве трубопроводов и т.п. В результате загрязнения сельскохозяйственных почв нефтью и нефтепродуктами происходит деградация растительного покрова, наблюдается замедление роста и развития растений, нарушаются функции фотосинтеза и дыхания. Главными причинами таких изменений являются: уменьшение поступления воды и питательных веществ, а также кислородное голодание [11, 12]. Кроме того, тяжелые фракции нефти малодоступны микроорганизмам, поэтому разложение этих веществ идет очень медленно, что в результате также может приводить к замедленному развитию растений. В свою очередь корневые системы растений и комплексы растений и микроорганизмов являются источниками почвенных ферментов. Растения выделяют в почву ферменты, которые трансформируют различные виды загрязняющих веществ (например, полихлорированные бифенолы, полициклические ароматические углеводороды).

Ферментативная активность наиболее сильно изменяется на ранних этапах нефтяного загрязнения. Это связано с первоначальным влиянием на почвенную микрофлору высоких и токсичных концентраций легких фракций нефти и нефтепродуктов [13, 14]. Таким образом, изучение биологической активности почв на ранних этапах загрязнения нефтью и нефтепродуктами необходимо для индикации и диагностики антропогенного воздействия.

Цель работы — определить влияние загрязнения нефтью и дизельным топливом на динамику активности ферментов класса гидролаз и оксидоредуктаз черноземовидной почвы.

Предположили, что 1) чем выше уровень загрязнения почвы нефтью и дизельным топливом, тем сильнее будет выражен эффект ингибирования ферментативной активности и 2) ферментативная активность будет изменяться в зависимости от срока инкубации. В этом исследовании проанализирована временная изменчивость энзиматической активности почвы, загрязненной нефтью и дизельным топливом в сравнении с фоновой почвой.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено в зоне влияния Восточно-Сибирского тихоокеанского магистрального нефтепровода на участке его прохождения по сельскохозяйственной территории на юге Амурской обл. В данном районе преобладают черноземовидные почвы — Stagnic Phaeozems (WRB, 2014), составляющие основу (40%) пахотного фонда Амурской обл. Эти почвы формируются на плоских водораздельных поверхностях, пологих долинных склонах, обладают высоким потенциальным плодородием и микробиологической активностью [15–17].

Для изучения динамики ферментативной активности почвы, загрязненной нефтью и нефтепродуктами, был заложен лабораторный опыт со следующими вариантами: 1 — контроль, 2 — допустимый уровень содержания нефти и дизельного топлива (1000 мг/кг), 3 — средний уровень содержания нефти и дизельного топлива (2000 мг/кг), 4 — очень высокий уровень содержания нефти и дизельного топлива (5000 мг/кг). Уровни загрязнения устанавливали согласно действующему нормативному документу [18].

Отбор почвенных образцов произведен на полях под зерновыми культурами в Благовещенском р-не в сентябре 2021 г. Географические координаты: N50°11'21.38", E 127°46'19.39". Образцы отобраны площадным методом. На площадке 5 × 5 м отобрано 5 точечных образцов, из которых методом конверта составлена объединенная проба массой 1 кг, глубина отбора — 0–20 см. Почвенные образцы перед закладкой лабораторного опыта высушены до воздушно-сухого состояния, измельчены и просеяны через сито с диаметром отверстий 2 мм.

Масса почвы для анализа — 100 г. Закладка опыта разделена на 3 срока инкубации: 10, 20 и 30 сут. Повторность опыта трехкратная. Почва в пакетах была насыщена водой до оптимальной влагоемкости 60%.

Исследованная черноземовидная почва характеризовалась кислой реакцией среды, высокой емкостью катионного обмена, низким содержанием органического углерода и азота, высокой суммой поглощенных оснований (в составе поглощенных катионов преобладал ион Ca^{2+}), низким содержанием минерального азота, повышенным содержанием подвижного фосфора, очень высоким содержанием обменного калия (табл. 1).

Энзиматическая активность черноземовидной почвы определена по активности ферментов класса оксидоредуктаз (каталазы, пероксидазы и полифенолоксидазы) и класса гидролаз (фосфатазы, уреазы). Активность каталазы определена перманганатометрическим методом по Джонсону–Темпле [19], активность нейтральной фосфатазы — по методу Малахова (гидролиз фенолфталейн фосфата натрия) [20], активность уреазы — методом Галстяна [19], активность ферментов пероксидазы и полифенолоксидазы — методом Галстяна [21].

Статистическая обработка и визуализация результатов выполнены в программе R Studio, версия 4.0.3. Для оценки величины и значимости эффектов применяли метод сравнения в зависимости от распределения данных. Проверку на нормальность распределения данных осуществляли по тесту Шапиро–Уилка. Для нахождения статистически значимых различий с параметрическим распределением данных применяли: для попарного сравнения и сравнения с референтной группой — тест Стьюдента (t -test), для сравнения >3-х групп — дисперсионный анализ

Таблица 1. Физико-химические и агрохимические свойства черноземовидной почвы

Свойства почвы	Показатель
pH _{H2O} , ед. pH	5.9 ± 0.1
pH _{KCl} , ед. pH	5.0 ± 0.1
ЕКО, мг-экв/100 г почвы	34.9 ± 3.2
Водорастворимый углерод, мг/л	18.3 ± 3.2
Общий углерод, %	1.9 ± 0.3
Водорастворимый азот, мг/л	1.1 ± 0.4
Ca ²⁺ , мг-экв/100 г почвы	16.9 ± 1.2
Mg ²⁺ , мг-экв/100 г почвы	5.5 ± 1.2
Σ Ca ²⁺ + Mg ²⁺ , мг-экв/100 г почвы	22.4 ± 2.16
K ₂ O, мг/кг	392 ± 55
P ₂ O ₅ , мг/кг	102 ± 10
N-NH ₄ , мг/кг	9.1 ± 1.2
N-NO ₃ , мг/кг	3.5 ± 1.2
N _{min} , мг/кг	12.6 ± 0.4

Примечание. Данные в таблице – средние ± стандартное отклонение, $n = 6$.

с последующим попарным сравнением методом Тьюки. Для непараметрических данных применяли: для попарного сравнения – критерий Уилкоксона, для сравнения >3-х групп – тест Краскала–Уоллиса, с последующим попарным Данн-тестом с поправкой Холма–Бонферрони.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Показано, что загрязнение почвы различными концентрациями нефти и дизельного топлива оказывало влияние на активность части ферментов. Например, отклик фермента уреазы на загрязнение наблюдали только на 30-е сут инкубации и при загрязнении нефтью: зафиксировано снижение активности фермента на 20–44% относительно контроля ($p < 0.05$) (рис. 1).

Активность пероксидазы повысилась при всех уровнях загрязнения на 20- и 30-е сут инкубации. При этом значимое повышение активности фермента на 20-е сут зафиксировано при очень высоком уровне загрязнения нефтью на 42% ($p = 0.019$) и при допустимом уровне загрязнения дизельным топливом на 49% ($p = 0.001$) относительно контроля, на 30-е сут инкубации при допустимом уровне загрязнения нефтью – на 39% ($p = 0.044$) и при очень высоком загрязнении дизельным топливом – на 39% ($p = 0.043$) относительно контроля.

Активность полифенолоксидазы повысилась при всех уровнях загрязнения на 20-е сут инкубации. При этом значимое повышение активности фермента

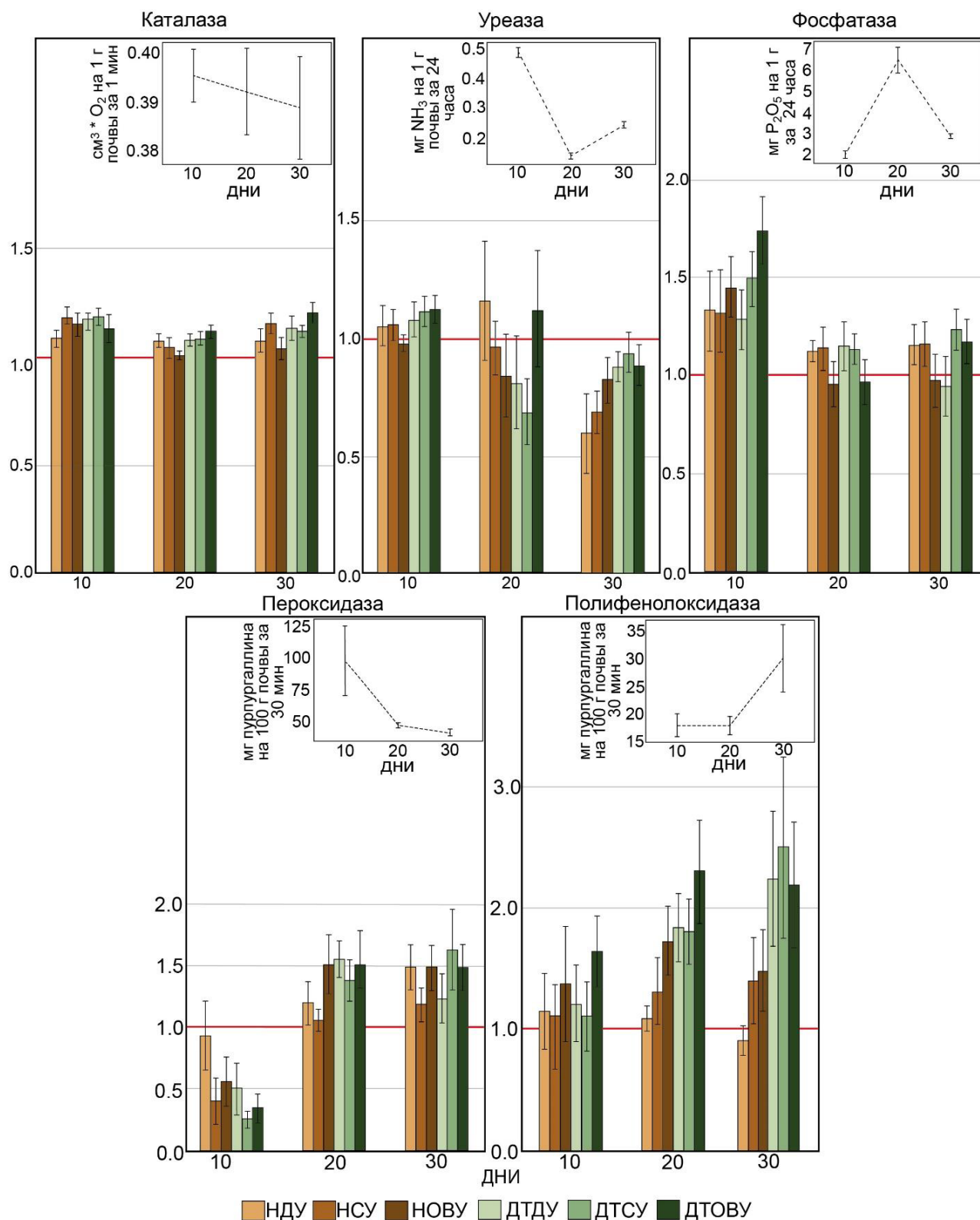
наблюдали при очень высоком уровне загрязнения нефтью и при всех уровнях загрязнения дизельным топливом – в 1.6–2.0 раза ($p < 0.043$) относительно контроля.

Значительного отклика ферментов каталазы и фосфатазы при загрязнении нефтью и дизельным топливом не обнаружено. По чувствительности к загрязнению нефтью и дизельным топливом ферменты располагались в следующем ряду: пероксидаза = полифенолоксидаза > уреазы > каталаза = фосфатаза.

Исследуя влияние срока инкубации, установили, что максимальная активность уреазы наблюдалась на 10-е сут эксперимента, на 20- и 30-е сут зафиксировано ее снижение в 2–6 раз во всех вариантах ($p < 0.001$). Максимальную активность фосфатазы отметили на 20-е сут эксперимента, на 10- и 30-е сут зафиксировано снижение активности этого фермента в 2–3 раза во всех вариантах ($p < 0.001$) (рис. 2).

Активность каталазы была стабильна на протяжении всех сроков инкубации. Максимальную активность пероксидазы отмечали на 20- и 30-е сут эксперимента, на 10-е сут зафиксировали ее снижение в 1.4–3.0 раза ($p < 0.006$). Активность полифенолоксидазы равномерно возрастала к 30-м сут инкубации. При этом значимых различий не было установлено.

Показано, что загрязнение черноземовидной почвы нефтью и дизельным топливом оказывало влияние только на активность уреазы, пероксидазы и полифенолоксидазы. Таким образом, гипотеза 1 подтвердилась не полностью. Не обнаружено



*Горизонтальная линия на графиках показывает контрольный вариант.

** НДУ – нефть допустимый уровень, НСУ – нефть средний уровень, НОВУ – нефть очень высокий уровень, ДТДУ – дизельное топливо допустимый уровень, ДТСУ – нефть средний уровень, ДТОВУ – нефть очень высокий уровень.

Рис. 1. Изменение ферментативной активности черноземовидной почвы при загрязнении нефтью и дизельным топливом относительно контроля.

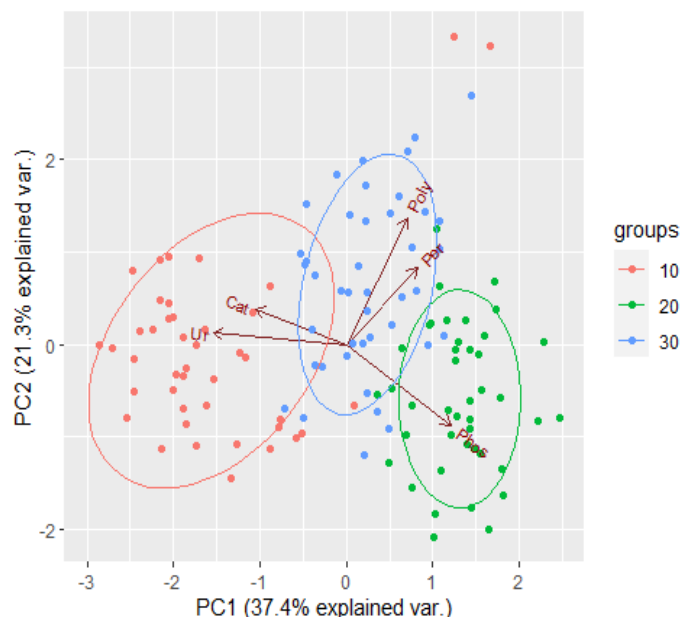


Рис. 2. Результаты применения метода главных компонент (PCA) для изучения влияния срока инкубации на ферментативную активность черноземовидной почвы.

ингибирование энзиматической активности при загрязнении почв, ферменты оказались устойчивыми к выбранным уровням загрязнения, что могло быть связано с физико-химическими свойствами почвы, устойчивостью микробных сообществ к составу и концентрациям загрязнителей и с тем, что нефтяные углеводороды могли послужить не токсикантом, а субстратом.

Нефть и нефтепродукты могут оказывать как положительное, так и отрицательное влияние на разложение органических веществ и ферментативную активность. Если нефтяные углеводороды стимулируют микробную и ферментативную активность, обеспечивая лабильный источник углерода, разложение может ускориться [22, 23]. Напротив, если нефть достаточно токсична или добавлена в достаточном количестве, чтобы вызвать гибель биодеструкторов (беспозвоночных или микробов), то разложение может быть заторможено [13]. Кроме того, воздействие нефти может зависеть от абиотических факторов, определяя микробиологическую, энзиматическую активность и скорость разложения органических веществ [24]. К таким факторам относятся содержание питательных веществ, кислорода в почве, температура, кислотность. Нефть и нефтепродукты взаимодействуют с почвенно-поглощающим комплексом и сообществами микроорганизмов, вызывая множество разнообразных реакций [13].

Многочисленные исследования показали, что при добавлении нефтяных углеводородов может усиливаться разложение органических веществ в почве и ферментативная активность, т.к. происходит, как правило, усиление дыхания почвы при увеличении

микробных популяций [9, 22, 23, 25, 26]. Однако некоторыми исследователями показано минимальное воздействие нефти на микробные популяции [13, 27, 28], а также негативное влияние нефти на популяции бактерий и активность ферментов [29–33].

Результаты нашего исследования показали, что наиболее индикаторными к нефтяному загрязнению оказались ферменты пероксидазы и полифенолоксидазы. Эти ферменты участвуют в многостадийных процессах разложения и синтеза органических соединений ароматического ряда: катализируют окисление ароматических соединений и их производных до хинонов, которые в соответствующих условиях конденсируются с аминокислотами и пептидами с образованием первичных молекул гуминовых кислот [34]. Поскольку процессы синтеза и разложения органических веществ происходят в почве одновременно, то по активности полифенолоксидазы и пероксидазы можно условно судить о гумификации. Увеличение активности полифенолоксидазы, участвующей в гумусообразовании в почве, как правило приводит к увеличению гумификации; увеличение пероксидазной активности может способствовать разложению гумуса в почве, что приводит к снижению его содержания в почвах. Кроме того, именно эти ферменты и рекомендуют использовать при биологическом мониторинге и диагностике экологических последствий нефтяного загрязнения почв. Данные ферменты являются чувствительными к нефтяному загрязнению, информативными и менее варьирующими по сравнению с другими показателями биологической активности почвы [35].

Существенным фактором, оказавшим влияние на активность изученных ферментов, оказался срок инкубации, тем самым подтверждая гипотезу 2. Тем не менее, не обнаружили четкой закономерности влияния продолжительности инкубационного периода на активность ферментов, поскольку в опыте был рассмотрен краткосрочный период воздействия нефти и дизельного топлива на ферментативную активность черноземовидной почвы — 10, 20 и 30 сут.

Некоторые исследования показали, что краткосрочное воздействие нефти и нефтепродуктов на микробные комплексы, ферментативную активность, разложение органических веществ значительнее, чем долгосрочное. Это связано с тем, что первоначально нефть и нефтепродукты имеют более высокие концентрации легких фракций, которые обладают повышенной токсичностью для растений [14] и почвенной микрофлоры, но в свою очередь их высокая испаряемость способствует быстрому самоочищению природной среды [13]. Напротив, парафины не оказывают сильного токсического воздействия на почвенную биоту, но благодаря высокой температуре отвердевания существенно влияют на физические свойства почвы.

Комплекс почвенных микроорганизмов отвечает на нефтяное загрязнение после кратковременного ингибирования повышением своей валовой численности и усилением активности. Прежде всего это относится к углеводородоокисляющим микроорганизмам (УОМ), количество которых резко возрастает по сравнению с незагрязненными почвами [36–38]. При загрязнении сообщество микроорганизмов почвы принимает неустойчивый характер, но по мере разложения нефти и нефтепродуктов в почве общее количество микроорганизмов приближается к фоновым количествам, при этом численность нефтеокисляющих бактерий (долго, например, в почвах южной тайги — до 10–20 лет) значительно превышает те же группы в незагрязненных почвах [39].

В нашем исследовании напрямую микроорганизмы не изучали. Микроорганизмы являются основным источником поступления ферментов в почву, при этом работ, посвященных исследованию краткосрочной динамики ферментативной активности почвы при нефтезагрязнении, недостаточно. Гидрофобные вещества на первых стадиях загрязнения преобразуют внеклеточные ферменты, включающие большой диапазон оксидоредуктаз и гидролаз. Они разрушают и трансформируют полимерные вещества в частично разложенные или окисленные продукты, которые могут быть легко поглощены клетками и полностью минерализованы [40]. При этом оксидоредуктазы могут также выполнять защитную функцию, окисляя токсические растворимые соединения в нерастворимые, не доступные для клетки продукты; гидролазы — из-за своей низкой

субстратной специфичности могут играть главную роль в биологическом разложении многих загрязняющих, в том числе, гидрофобных веществ [41].

В нашем исследовании максимальная активность уреазы на 10-е сут опыта могла быть связана с гидролизом мочевины в почве в процессе аммонификации под действием микроорганизмов, синтезирующих уреазу. При достаточном количестве влаги и кислорода в почве мочевина интенсивно разлагается, активируется биологическая деятельность, и, как следствие, — активность уреазы. Уреаза может терять активность с течением времени, поскольку каталитические центры становятся менее доступными из-за диффузии мочевины в почве. Дополнительным объяснением может служить уменьшение количества ризосферных микроорганизмов при инкубации, благодаря которым продуцируется уреазы, вследствие чего происходит снижение активности этого фермента.

При загрязнении нефтью и дизельным топливом максимальная активность уреазы на ранних этапах инкубации, возможно, была связана с увеличением содержания органического углерода в почве, который активизировал азотный обмен и окислительно-восстановительные реакции. Кроме того, нефтяное загрязнение могло снизить pH почвенного раствора, что также приводило к увеличению активности уреазы.

По результатам ряда исследований установлено, что активность уреазы при нефтяном загрязнении повышается, и это связано с ростом численности аммонифицирующих микроорганизмов [1, 42–44]. В нашем исследовании при нефтяном загрязнении на ранних этапах инкубации, возможно, произошло повышение численности аммонифицирующих микроорганизмов и, как следствие, усиление активности уреазы. В остальные сроки инкубации, по мере разложения углеводородов нефти и нефтепродуктов, вероятно, происходила активизация углеводородоокисляющих микроорганизмов (УОМ) и снижение численности аммонифицирующей микрофлоры и, как следствие, снижение активности уреазы.

Значительное увеличение фосфатазной активности в середине инкубации могло быть связано с недостатком фосфора для почвенного сообщества в данный период. Фермент фосфатаза катализирует процесс минерализации органического фосфора, при котором высвобождается фосфорная кислота из органических соединений, поступающих с растительными остатками. Таким образом, одним из факторов, влияющих на фосфатазную активность, является обеспеченность почвы подвижными фосфатами, доступными для микроорганизмов. При недостатке в почве доступного фосфора происходит дополнительное выделение ферментов микроорганизмами

и растениями, что ведет к возрастанию фосфатазной активности. Справедливо и обратное утверждение — при избытке подвижного фосфора активность фосфатазы снижается [45]. В свою очередь, данные процессы зависят и от гидротермических условий [46–48]. Известно, что поступление нефти в почву ведет к инаktivации фосфогидролаз, уменьшению содержания подвижных фосфатов, что затрудняет передвижение фосфора в пищевых цепях, фосфорное питание растений и обеспеченность их доступными формами соединений фосфора [44].

Активность каталазы в нашем исследовании была стабильна в течение всего опыта. Каталаза является важным клеточным антиоксидантным ферментом, который защищает почвенную среду от окислительного стресса и катализирует разложение пероксида водорода на воду и кислород. В свою очередь, основная роль в процессах самоочищения почвы от загрязняющих веществ принадлежит биологическому окислению. Биологическое окисление происходит в результате окислительно-восстановительных ферментных реакций, способствующих разрушению не свойственных почвам веществ. Таким образом, стабильность активности каталазы может отражать потенциальную способность почвенной среды сохранять гомеостаз при антропогенных нарушениях. Кроме того, результатами различных исследований установлено, что каталаза является ферментом, отражающим изменения окислительно-восстановительных условий среды. Поэтому целесообразно использовать активность каталазы как диагностический энзимологический показатель общей биологической активности почв [49].

Повышение активности пероксидазы и полифенолоксидазы в середине и конце инкубации могло быть связано с тем, что к указанному периоду произошла частичная трансформация нефти и нефтепродуктов в процессе окисления в компоненты гумуса, поскольку ферменты катализируют многостадийные процессы разложения и синтеза органических соединений ароматического ряда при гумификации [50].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, показано, что в случае загрязнения черноземовидной почвы нефтью и дизельным топливом в дозах от 1000 до 5000 мг/кг ингибирования ферментативной активности почвы не произошло. Активность уреазы снизилась при воздействии нефти в конце инкубационного периода, что могло быть связано с диффузией мочевины в почву и снижением количества ризосферных микроорганизмов, продуцирующих уреазу. Активность фосфатазы при загрязнении нефтью и дизельным топливом была стабильной, т.к. загрязнение почвы не привело к дефициту подвижного фосфора на протяжении всего

периода инкубации. Загрязнение нефтью и дизельным топливом не повлияло на активность каталазы за весь период инкубации, отражая стабильность окислительно-восстановительных условий черноземовидной почвы. Активность пероксидазы и полифенолоксидазы повысилась при загрязнении нефтью и дизельным топливом в середине и конце инкубации, что связано с частичной трансформацией нефти и нефтепродуктов в процессе окисления в компоненты гумуса. Таким образом, вероятно нефтяные углеводороды послужили не токсикантом, а субстратом для микроорганизмов.

Автор искренне признательна С.В. Брянину, канд. биол. наук, руководителю лаборатории климатических и углеродных исследований ИГиП ДВО РАН за ценные комментарии к ранним версиям рукописи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шамраев А.В., Шорина Т.С. Влияние нефти и нефтепродуктов на различные компоненты окружающей среды // Вестн. ОГУ. 2009. № 6(100). С. 642–645.
2. Wyszowska J., Kucharski J., Waidowska E. The influence of diesel oil contamination on soil enzymes activity // Rostlinna Vyroba. 2002. V. 48. P. 58–62.
3. Moradi S., Sarikhani Mohammad Reza, Ale-Agha Ali Beheshti, Hasanpur Karim, Shiri Jalal. Effects of natural and prolonged crude oil pollution on soil enzyme activities // Geoderma Region. 2024. V. 36. P. e00742.
4. Поляк Ю.М., Сухаревич В.И. Почвенные ферменты и загрязнение почв: биodeградация, биоремедиация, биоиндикация // Агрохимия. 2020. № 3. С. 83–93.
5. Габбасова И.М. Дeградация и рекультивация почв Башкортостана. Уфа: Гилем, 2004. 284 с.
6. Bai W., Wang Genxu, Shang Guanglie, Xu Lei, Wang Zilong. Effects of experimental warming on soil enzyme activities in an alpine swamp meadow on the Qinghai-Tibetan Plateau // Pedobiol. J. Soil Ecol. 2023. V. 101. P. 150910.
7. Lemanowicz J., Brzezinska Małgorzata, Siwik-Ziomek Anetta, Koper Jan. Activity of selected enzymes and phosphorus content in soils of former sulphur mines // Sci. Total Environ. 2020. V. 708. Iss. 13. P. 134545.
8. Колесников С.И., Спивакова Н.А., Везденева Л.С., Кузнецова Ю.С., Казеев К.Ш. Влияние модельного загрязнения нефтью на биологические свойства почв сухих степей и полупустынь юга России // Аридные экосист. 2013. Т. 19. № 2(55). С. 58–63.
9. Dindar E., Olcay Topac Sagban F., Baskaya Huseyin S. Variations of soil enzyme activities in petroleum-hydrocarbon contaminated soil // Inter. Biodeteriorat. Biodegradat. 2015. V. 105. P. 268–275.
10. Guo H., Yao J., Cai M., Qian Y., Guo Y., Richnow H.H., Blake R.E., Doni S., Ceccanti B. Effects of petroleum contamination on soil microbial numbers, metabolic

- activity and urease activity // *Chemosphere*. 2012. V. 87. № 11. P. 1273–1280.
11. Байчоров Р.А. Действие нефти и нефтепродуктов на свойства почв и продуктивность растений // *E-Scio*. 2020. Электр. ресурс, режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/deystvie-nefti-i-nefteproduktov-na-svoystva-pochv-i-produktivnost-rasteniy?ysclid=lpkx6byrc7720051773>
 12. Вержбицкий В.В., Андрианов И.И., Полтавская М.Д. Охрана окружающей среды в нефтегазовом деле: уч. пособ. Ставрополь: Изд-во СКФУ, 2014. 97 с.
 13. Mendelsohn I.A., Slocum M.G. Relationship between soil cellulose decomposition and oil contamination after an oil spill at Swanson Creek, Maryland // *Marine Polluti. Bul.* 2004. V. 48. P. 359–370.
 14. Pezeshki S.R., Hester M.W., Lin Q., Nyman J.A. The effects of oil spill and clean-up on dominant US Gulf coast marsh macrophytes: a review // *Environ. Pollut.* 2000. V. 108. P. 129–139.
 15. Голов Г.В. Почвы и экология агрофитоценозов Зейско-Буреинской равнины. Владивосток: Дальнаука, 2001. 162 с.
 16. Ивлев А.М., Дербенцева В.И., Голов В.И., Трегубова В.Г. Агрохимия почв юга Дальнего Востока. М.: Круглый год, 2001. 104 с.
 17. Пилецкая О.А. Биологическая активность черноземовидной почвы при использовании различных систем удобрений: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток: ДФУ, 2015. 24 с.
 18. Документ (Письмо) Министерство охраны окружающей среды и природных ресурсов РФ от 27.12.93 № 61-5678 «О порядке определения размеров ущерба от загрязнения земель» // Техэксперт: [сайт]. URL: <http://docs.cntd.ru/document/9033369>
 19. Муртазина С.Г., Гайсин И.А., Муртазин М.Г. Практикум по почвоведению. Казань: КазанГСХА, 2006. 225 с.
 20. Малахов С.Г. Временные методические рекомендации по контролю загрязнения почв. М.: Моск. отд-е гидрометеоздата, 1984. 40 с.
 21. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Ин-т биологии Уфим. НЦ, Наука, 2005. 252 с.
 22. Griffiths B.S., Bonkowski M., Roy J., Ritz K. Functional stability, substrate utilisation and biological indicators of soils following environmental impacts // *Appl. Soil Ecol.* 2001. V.16. Iss. 1. P. 49–61.
 23. Siddiqui S., Adams W.A. The fate of diesel hydrocarbons in soils and their effect on the germination of perennial ryegrass // *Environ. Toxicol* 2002. V. 17. Iss. 1. P. 49–62.
 24. Blakely J.K., Neher D.A., Spongberg A.L. Soil invertebrates and microbial communities, and decomposition as indicators of polycyclic aromatic hydrocarbon contamination // *Appl. Soil Ecol.* 2002. V. 21. Iss. 1. P. 71–88.
 25. Li Y., Morris J.T., Yoch D.C. Chronic low level hydrocarbon amendments stimulate plant growth and microbial activity in saltmarsh microcosms // *J. Appl. Ecol.* 1990. V. 27. № 1. P. 159–171.
 26. Li M., Horsman B., Wang N., Lan Wu C.Q. Effects of nitrogen sources on cellgrowth and lipid accumulation of green alga *Neochloris oleoabundans* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2008. V. 81. P. 629–636.
 27. Allen C.A., Wagner W.C. Rhizosphere activity of cattail (*Typha latifolia*) and spike rush (*Eleocharis tuberculosa*) inhabiting an oil spill // *Texas J. Sci.* 2000. V. 52. P. 335–344.
 28. Delaune R.D., DeLaune R.D., Patrick Jr. W.H., Burresh R.J. Effects of crude oil on a Louisiana *Spartina alterniflora* salt marsh // *Environ. Pollut.* 1979. V. 20. Iss. 1. P. 21–31.
 29. Сергаменко С.Н., Федорова И.Л., Игнатова Т.Д. Влияние нефтяного загрязнения на активность почвенных ферментов классов оксидоредуктаз и гидролаз // *Вестн. Ульян. ГСХА*. 2022. № 3. С. 83–88.
 30. Achuba F.I., Peretiemo-Clarke B.O. Effect of spent engine oil on soil catalase and dehydrogenase activities // *Inter. Agrophysics*. 2008. V. 22. P. 1–4.
 31. Uzoije A.P., Agunwamba J.C. Physiochemical properties of soil in relation to varying rates of crude oil pollution // *J. Environ. Sci. Technol.* 2011. V. 4. Iss. 3. P. 313–323.
 32. Walker J.D., Seesman P.A., Colwell R.R. Effect of south Louisiana crude oil and no. 2 fuel oil on growth of heterotrophic microorganisms, including proteolytic, lipolytic, chitinolytic and cellulolytic bacteria // *Environ. Pollut.* 1975. V. 9. Iss. 1. P. 13–33.
 33. Wang S., Xu Yan, Lin Zhaofeng, Zhang Jishi, Norbu Namkha, Liu Wei. The harm of petroleum-polluted soil and its remediation research // *AIP Conf. Proceed.* 2017. V. 1864. Iss.1. P. 1–8.
 34. Раськова Н.В. Активность и свойства пероксидазы и полифенолоксидазы в дерново-подзолистых почвах под лесными биоценозами // *Почвоведение*. 1995. № 11. С. 25–30.
 35. Гулько А.Е., Хазиев Ф.Х. Фенолоксидазы почв: продуцирование, иммобилизация, активность // *Почвоведение*. 1992. № 11. С. 145–148.
 36. Коршунова Т.И., Четвериков С.П., Бакаева М.Д., Кузина Е.В., Рафикова Г.Ф., Четверикова Д.В., Логинов О.Н. Микроорганизмы в ликвидации последствий нефтяного загрязнения (обзор) // *Прикл. биохим. и микробиол.* 2019. Т. 55. № 4. С. 338–349.
 37. Мязин В.А., Фокина Н.В. Использование биоремедиации для очистки почв от нефтезагрязнения в условиях Кольского Севера // *Сб. научн. тр. «Проблемы рекультивации отходов быта, промышленного и сельскохозяйственного производства»* Краснодар: Кубан.ГАУ им. И.Т. Трубилина, 2017. С. 70–75.
 38. Назаров А.В., Ананьина Л.Н., Ястребова О.В., Плотникова Е.Г. Влияние нефтяного загрязнения на

- бактерии дерново-подзолистой почвы // Почвоведение. 2010. № 12. С. 1489–1493.
39. Другов Ю.С., Родин А.А. Экологические анализы при разливах нефти и нефтепродуктов: практ. руково. 2-е изд. (эл.). М.: БИНОМ, Лаборатория знаний, 2015. 273 с.
 40. Руденко Е.Ю. Биоремедиация нефтезагрязненных почв органическими компонентами отходов пищевой (пивоваренной) промышленности: Дис. ... д-ра биол. наук. Самара, 2015. 352 с.
 41. Gianfreda L., Rao M.A. Potential of extra cellular enzymes in remediation of polluted soils: a review // Enzyme Microb. Technol. 2004. V. 35. P. 339–354.
 42. Исмаилов Н.М. Микробиология и ферментативная активность нефтезагрязненных почв // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. М.: Наука, 1988. С. 42–57.
 43. Киреева Н.А., Новоселова Е.И., Хазиев Ф.Х. Ферменты азотного обмена в нефтезагрязненных почвах // Изв. РАН. Сер. биол. 1997. С. 755–759.
 44. Новоселова Е.И. Ферментативная активность почв в условиях нефтяного загрязнения и ее биодиагностическое значение // Теор. и прикл. экол. 2009. № 2. С. 4–12.
 45. Безуглова О.С., Наими О.И., Полиенко Е.А., Лыхман В.А., Дубинина М.Н., Поволоцкая Ю.С., Патрикеев Е.С. Ферментативная активность чернозема обыкновенного при разложении соломы в почве // Усп. совр. естествознания. 2019. № 12. С. 199–204.
 46. Лабутова Н.М., Банкина Т.А. Основы биогеохимии. СПб.: Изд. дом СПбГУ, 2013. 239 с.
 47. Пилецкая О.А., Ячная Д.А. Влияние сроков и способов хранения на изменение активности ферментов черноземовидной почвы Зейск-Буреинской равнины // Бюл. Почв. ин-та им. В.В. Докучаева. 2022. Вып. 112. С. 48–72. DOI: 10.19047/0136-1694-2022-112-48-72
 48. Турусов В.И., Гармашов В.М., Дьячкова Т.И. Ферментативная активность чернозема обыкновенного в различных севооборотах при разных способах обработки почвы // Агрохимия. 2012. № 9. С. 21–25.
 49. Русанов А.М., Мисетов И.А., Шорина Т.С. К вопросу диагностики и оценки загрязненных нефтью черноземов // Вестн. ТомскГУ. 2012. № 364. С. 219–224.
 50. Воронин А.А., Протасова Н.А., Беспалова Н.С. Динамика ферментативной активности чернозема обыкновенного в условиях полевого стационарного опыта федерального полигона «Каменная степь» // Вестн. ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация. 2006. № 2. С. 122–127.

Effect of Oil and Diesel Fuel Pollution on Enzymatic Activity of Meadow Chernozem-like Soil

O. A. Piletskaya

*Institute of Geology and Nature Management FEB RAS,
Relochny per. 1, Blagoveshchensk 675000, Russia,
E-mail: olgapiletskaya1988@gmail.com*

In the laboratory experiment, the effect of oil pollution on the short-term dynamics of the activity of urease, phosphatase, catalase, peroxidase and polyphenol oxidase of the chernozem soil of the south of the Far East was studied. It was found that when soil was contaminated with oil and petroleum products, urease activity decreased by 20–44% at the end of incubation, peroxidase activity increased by 39–49% in the middle and end of incubation, polyphenol oxidase activity increased 1.6–2.0 times in the middle of incubation. The activity of phosphatase and catalase was stable at different levels of contamination throughout the experiment. Examining the effect of the incubation period, it was found that the maximum activity of urease was on the 10th day, phosphatase – on the 20th, peroxidase – on the 20th and 30th, polyphenol oxidase – on the 30th day of the experiment. Catalase activity was stable throughout all incubation periods. It was shown that in the case of contamination of chernozem-like soil with oil and diesel fuel in doses up to 5000 mg/kg, inhibition of enzymatic activity did not occur in the early stages.

Keywords: chernozem soil, pollution with petroleum products, enzymatic activity, incubation period, Far East.