



Ферментативная активность техногенных поверхностных образований Кузбасса

© 2022. А. С. Фролова , М. К. Переверзева, А. К. Асякина, Ю. В. Голубцова, М. А. Осинцева

ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», г. Кемерово,
Российская Федерация

Угольная промышленность является одной из ведущих отраслей в мировом энергобалансе. Главным регионом России, специализирующимся на угледобыче, является Кузбасс, где добывают около 60 % всего угля страны. Добыча на территории Кемеровской области осуществляется в основном открытым способом, в результате чего образуются нарушенные земли, площадь которых составляет порядка 178 тыс. га. Индикатором самовосстановления почв является ферментативная активность. Цель работы – изучение ферментативной активности техногенных поверхностных образований Кузбасса для оценки их токсичности и дальнейшего подбора микроорганизмов-деструкторов, ризобактерий и растений-гипераккумуляторов, которые будут применяться на биологическом этапе рекультивации. Материалом для исследования послужили образцы техногенных поверхностных образований, отобранные на территории Барзасского и Моховского угольных отвалов. Ферментативная активность техногенно нарушенных образований отвалов составила: инвертаза – 2,24 и 2,12 мг сахарозы, расщепленной 1 г почвы за 1 час; нитритредуктаза – 0,57 и 0,07 мг восстановленного NO_2^- на 1 г почвы за 24 часа; аспарагиназа – 71,22 и 60,63 мг NH_3 на 1 г почвы за 24 часа соответственно. При изучении ферментативной активности сделали предположение – аборигенная микрофлора использует в качестве источников углерода низко- и высокомолекулярные углеводороды (алканы, полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) и др.). Содержание подвижных форм тяжелых металлов (ТМ) в изучаемых образцах превышает предельно допустимые концентрации в 1,2–2,6 раза. В ходе статистического анализа выявлено, что валовые и подвижные формы цинка и меди являются ингибиторами нитритредуктазы, валовая и подвижная формы никеля – активаторами аспарагиназы в техногенных нарушенных образованиях исследуемых угольных отвалов, а также ингибиторами инвертазы в Моховском угольном отвале.

Ключевые слова: угольные отвалы, загрязненная почва, тяжелые металлы, инвертаза, нитритредуктаза, аспарагиназа

Благодарности: работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ (тема FZSR-202100).

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Фролова А. С., Переверзева М. К., Асякина Л. К., Голубцова Ю. В., Осинцева М. А. Ферментативная активность техногенных поверхностных образований Кузбасса. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2022;23(4):538-547. DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2022.23.4.538-547>

Поступила: 30.05.2022

Принята к публикации: 09.08.2022

Опубликована онлайн: 25.08.2022

Enzymative activity of technogenic surface formations of Kuzbass

© 2022. Anna S. Frolova , Maria K. Pereverzeva, Ludmila K. Asyakina, Yulia V. Golubtsova, Maria A. Osintseva

Kemerovo State University, Kemerovo, Russian Federation

The coal mining is one of the leading industries in the global energy balance. Kuzbass is the main region of Russia that specializes in coal mining. About 60 % of the country's coal is mined there. Coal mining is carried out mainly by the open-pit method. As a result, some 178 thousand hectares ha of disturbed land are formed. Enzymatic activity is an indicator of soil self-repair. The aim of the work was to study the enzymatic activity of technogenic surface formations of the Kuzbass to assess their toxicity and further selection of destructor microorganisms, rhizobacteria and hyperaccumulator plants, which will be further used at the biological stage of recultivation. As objects of research, the samples of technogenic surface formations taken on the territory of the Barzassky and Mokhovsky coal dumps. Enzymatic activity of technogenic surface formations of dumps was: invertase – 2,24 and 2,12 mg of sucrose split 1 g soil in 1 h; nitrite reductase – 0,57 and 0,07 mg reduced NO_2^- per 1 g soil in 24 h; asparaginase – 71,22 and 60,63 mg NH_3 per 1 g soil in 24 h, respectively. When studying the enzymatic activity, it was assumed that the native microflora uses low- and high-molecular hydrocarbons (alkanes, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), etc.) as carbon sources. The content of mobile forms of heavy metals (HM) in the studied samples exceeds the maximum allowable concentration by 1,2–2,6 times. In the course of statistical analysis, it was revealed that the gross and mobile forms of zinc and copper are nitrite reductase inhibitors, the gross and mobile form of nickel is an asparaginase activator, in technogenic disturbed formations of the studied coal dumps. Nickel is also an invertase inhibitor in the Mokhovsky coal dump.

Keywords: coal dumps, polluted soil, heavy metals, invertase, nitrite reductase, asparaginase

Acknowledgements: the work was carried out with the support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (theme FZSR-2021-00).

The authors thank the reviewers for their contribution to the expert evaluation of this work.

Conflict of interests: the authors stated that there was no conflict of interests.

For citation: Frolova A. S., Pereverzeva M. K., Asyakina L. K., Golubtsova Yu. V., Osintseva M. A. Enzymatic activity of technogenic surface formations of Kuzbass. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* = Agricultural Science Euro-North-East. 2022;23(4):538-547. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2022.23.4.538-547>

Received: 30.05.2022

Accepted for publication: 09.08.2022

Published online: 25.08.2022

Угольная промышленность является одной из ведущих отраслей в мировом энергобалансе. В Российской Федерации центром угледобычи является Кемеровская область – Кузбасс. В регионе добывается около 60 % всего угля России [1]. Эффективность угледобычи ежегодно увеличивается в связи с модернизацией производства, что негативно сказывается на экологическом состоянии региона. Это связано с тем, что добыча производится в основном открытым способом, в результате чего нарушается плодородный слой почвы и образуются отвалы вскрышных пород. Немаловажную роль в экологическом состоянии региона играют углеобогащательные фабрики, отходы которых также хранятся на ранее ненарушенных землях. Результатом такой антропогенной деятельности является появление на территории области нарушенных земель, т. е. территорий, которые невозможно использовать по целевому назначению [2, 3]. Площадь нарушенных земель в Кемеровской области достигает 178 тыс. га. Наиболее подвержены антропогенному воздействию Кемеровский, Ленинск-Кузнецкий, Прокопьевский, Новокузнецкий, Беловский муниципальные округа/районы [3].

По данным многочисленных исследований, на территории угольных отвалов содержатся тяжелые металлы и металлоиды (марганец, кобальт, ванадий, цинк, свинец, никель, хром, медь, мышьяк и др.) [4], а также полициклические ароматические углеводороды (ПАУ). Наибольшую опасность для здоровья человека представляют летучие соединения свинца, мышьяка и ПАУ (большинство из которых являются канцерогенами), образующиеся в процессе горения угольных отвалов в летний период. Данные вещества способны распространяться на несколько километров от очага возгорания [5]. Это особенно важно, т. к. населенные пункты находятся в непосредственной близости от мест захоронения отходов угледобычи.

Загрязнение территорий поллютантами (тяжелыми металлами, металлоидами, ПАУ и т. д.) подавляет жизнедеятельность аборигенной микрофлоры, что препятствует есте-

ственному восстановлению почв, индикатором эффективности которой является ферментативная активность [6]. Ферменты участвуют в расщеплении сложных органических и неорганических соединений, переводят их в легкоусвояемые и нетоксичные для растений формы. Наиболее значимыми являются [7, 8, 9, 10]:

– инвертаза, отвечающая за расщепление полисахаридов до моносахаридов;

– целлюлаза, отвечающая за расщепление целлюлозы растений до усвояемых моносахаридов;

– нитритредуктаза, отвечающая за окисление нитритов до газообразных соединений азота;

– апарегиназа, участвующая в восстановлении азотсодержащих органических соединений (аминокислот, пептидов) до аммиака;

– уреазы и протеазы, участвующие в процессе превращения органического азота в неорганические формы;

– фосфатаза, участвующая в круговороте фосфора (гидролизе фосфорсодержащих органических соединений).

Помимо участия в круговороте питательных веществ, ферменты также способствуют адаптации микрофлоры и растений к действию поллютантов, за счет их детоксикации. Так, например, пероксидаза и полифенолоксидаза участвуют в окислении сложных органических соединений (полифенолов, ароматических соединений, ПАУ) до простых соединений, не оказывающих токсического действия на микроорганизмы и флору, и в образовании гумусовых веществ почвы [11].

Для разработки эффективной стратегии ремедиации мест захоронения отходов угледобычи (т. е. для подбора наиболее перспективных растений и микроорганизмов) необходимо провести санитарную оценку техногенных поверхностных образований (анализ содержания тяжелых металлов и металлоидов, ПАУ, фенольных веществ и т. д.) и изучить ее биохимические показатели (т. е. ферментативную активность) [12].

Цель исследований – изучение ферментативной активности техногенных поверхностных образований Кемеровской области (Кузбасса) для оценки их токсичности и даль-

нейшего подбора микроорганизмов-деструкторов, ризобактерий и растений-гипераккумуляторов, которые в дальнейшем будут применяться на биологическом этапе рекультивации.

Научная новизна – получение экспериментальных данных о содержании тяжелых металлов и ферментативной активности техногенных поверхностных образований Кузбасса за 2021 год, необходимых для разработки консорциума на основе аборигенной микрофлоры

исследованных территорий и создания эффективной стратегии ремедиации мест захоронения отходов угледобычи.

Материал и методы. Объектами исследования являлись образцы техногенных поверхностных образований, отобранные с отвала обогатительной фабрики ООО «СП «Барзасское товарищество» (рис. 1) и поверхностного слоя внешнего отвала «Моховский угольный разрез» (рис. 2).

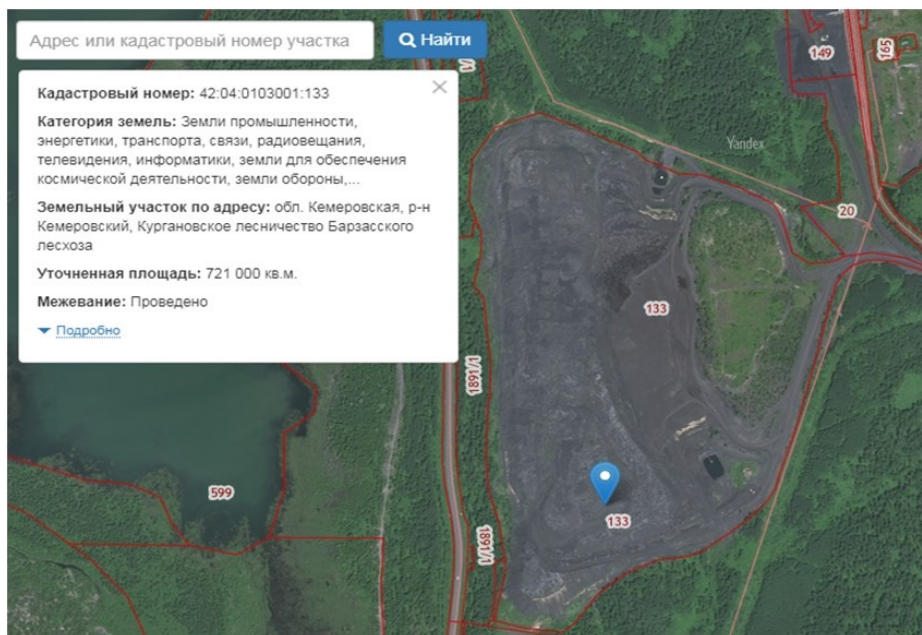
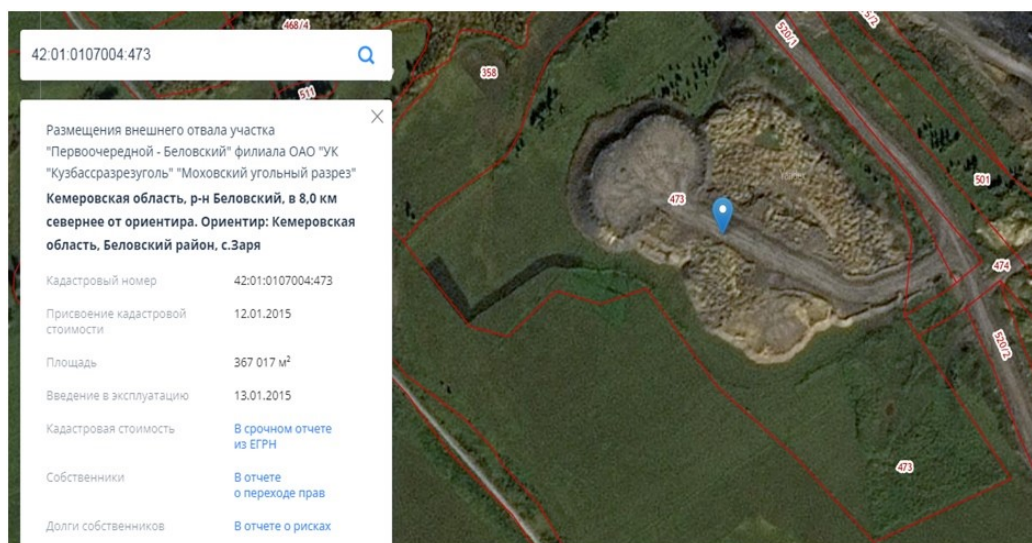


Рис. 1. Снимок со спутника отвала обогатительной фабрики ООО «СП «Барзасское товарищество» с сайта «Публичная кадастровая карта» /

Fig. 1. The location of the coal dump of the processing factory "Barzassky partnership", source: <https://pkk.rosreestr.ru/>



Отбор образцов техногенных поверхностных образований на территории угольных отвалов осуществляли в соответствии с ГОСТ 17.4.4.02-2017¹.

Для анализа ферментативной активности техногенных поверхностных образований выбраны следующие ферменты: инвертаза, нитритредуктаза и аспарагиназа.

Определение инвертазной активности проводили по методу, описанному Sun и др. [13]. Навеску образца массой 5 г помещали в коническую колбу объемом 50 мл, приливали 5 мл 20%-го раствора сахарозы и 5 мл ацетатного буфера, перемешивали, колбу помещали в термостат при температуре 37 °C на 3 часа. Далее в колбу приливали 40 мл дистиллированной воды, перемешивали и фильтровали, 10 мл фильтрата помещали в мерную колбу на 50 мл, вносили 4 мл медного реактива, кипятили в течение 25 минут на водяной бане. Охлаждали и приливали к нему 2 мл 0,2 М раствора гидрофосфата натрия, 5 мл молибденового реактива и перемешивали. Через 1 час доводили до метки водой и помещали в кювету для колориметрирования. Измерение проводили при длине волны 620 нм. Инвертазную активность выражали в мг сахарозы, расщепленной 1 г почвы за 1 час.

Определение нитритредуктазной активности осуществляли по методике, описанной Liu и др. [14]. Навеску пробы массой 1 г смешивали с 20 мг карбоната кальция, 1 мл раствора нитрита натрия (0,5%-й) и 1 мл раствора глюкозы (1%-й) и перемешивали. Колбу помещали в термостат при температуре 30 °C на 24 часа. После выдержки в колбы с образцом вносили 50 мл дистиллированной воды и 1 мл алюминиевых квасцов. Полученный раствор перемешивали и фильтровали. В мерную колбу объемом 50 мл помещали 5 мл фильтрата, вливали 5 мл дистиллированной воды и 4 мл раствора реактива Грисса; доводили до метки дистиллированной водой. Колбу взбалтывали и через 15 минут окрашенные растворы колориметрировали при длине волны 600 нм. Активность нитритредуктазы выражали в мг восстановленного NO₂⁻ на 1 г почвы за 24 часа.

Для анализа аспарагиназной активности использовали методику, описанную El-Gendy

[15]. В колбу объемом 50 мл вносили 1 г исследуемого образца, приливали 5 мл раствора аспаргина (3%-й), 0,2 мл толуола и доводили до метки фосфатным буфером (pH = 6,7). Пробу помещали в термостат (t = 30 °C) на 24 часа. После выдержки в колбу вносили 25 мл раствора хлорида кальция (1 Н). Полученный раствор перемешивали и фильтровали. К 10 мл фильтрата добавляли несколько крупиц красителя бромфенилового синего и титровали раствором серной кислоты (0,02 Н). Активность аспарагиназы выражали в мг NH₃ на 1 г почвы за 24 часа.

Содержание валовых и подвижных форм цинка, меди и никеля определяли по М-МВИ-80-2008 методом атомно-абсорбционной спектроскопии². Экстракцию проводили с помощью ацетатно-аммонийного буфера (pH = 4,8).

Все исследуемые параметры определяли в трехкратной повторности.

Для статистической обработки данных использовали значения коэффициента корреляции Пирсона (*r*). Достоверность результатов определяли с помощью коэффициента значимости (*p* < 0,05). Расчет данных коэффициентов проводили, используя пакет программ Microsoft Office. Степень связи определяли в соответствии со шкалой оценки линейного коэффициента корреляции Пирсона: 0,1-0,3 – слабая; 0,3-0,5 – умеренная; 0,5-0,7 – заметная; 0,7-0,9 – высокая; 0,9-1,0 – весьма высокая [16].

Результаты и их обсуждение. Основные агрохимические свойства техногенных поверхностных образований даны в таблице 1. Необходимо отметить, что органическое вещество техногенных поверхностных образований следует рассматривать как потенциальное содержание высокомолекулярных углеродсодержащих токсичных органических соединений, характерных для угольных отвалов (ПАУ, высокомолекулярные алканы и т. д.).

Анализ активности выбранных ферментов позволит оценить скорость накопления в техногенных поверхностных образованиях основных питательных веществ (моносахаридов, органического и доступного неорганического азота), необходимых для жизнедеятельности микроорганизмов и растений.

¹ГОСТ 17.4.4.02–2017 «Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа». URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200158951>

²М-МВИ-80-2008 Методика выполнения измерений массовой доли элементов в пробах почв, грунтов и донных отложениях методами атомно-эмиссионной и атомно-абсорбционной спектроскопии. URL: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293824/4293824289.htm>

Таблица 1 – Агрохимические свойства техногенных поверхностных образований /
 Table 1 – Agrochemical properties of technogenic surface formations

Показатель / Indicator	Угольный отвал / Coal dump	
	Барзасский / Barzassky	Моховский / Mokhovsky
pH _{вод}	7,9	8,9
Органическое вещество, % / Organic matter, %	1,39	4,02
Степень насыщенности основаниями, % / Saturation degree of bases, %	99,1	99,5
Обменный калий, мг/кг / Exchangeable potassium, mg/kg	111	119
Нитратный азот, мг/кг / Nitrate nitrogen, mg/kg	3,1	3,6
Общий азот, % / Total nitrogen, %	0,112	0,126
Кальций, ммоль/100 г / Ca, mmol/100 g	0,51	0,55
Магний, ммоль/100 г / Mg, mmol/100 g	0,62	0,59

Оценку инвертазной активности проводили с целью изучения способности аборигенной микрофлоры техногенных поверхностных образований использовать в качестве питательных веществ полисахариды, выделяемые в составе корневых экссудатов [10].

Это необходимо для обоснования использования только аборигенной микрофлоры в составе разрабатываемого микробного консорциума. Среднее значение инвертазной активности представлено на рисунке 3.

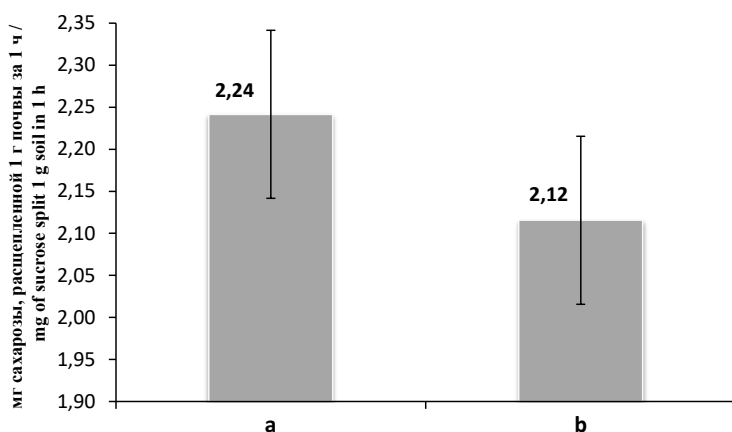


Рис. 3. Среднее значение инвертазной активности техногенных поверхностных образований угольных отвалов: а – Барзасский, б – Моховский /

Fig. 3. Average value of invertase activity of technogenic surface formations coal dumps: a – Barzassky, b – Mokhovsky

Активность инвертазы образцов техногенных поверхностных образований, отобранных с поверхностного слоя Барзасского угольного отвала, выше в 1,06 раза, чем у образцов, отобранных с поверхностного слоя Моховского угольного отвала.

Оценку нитритредуктазной активности осуществляли для исследования способности микробиоты техногенных поверхностных образований проводить окисление труднодоступных нитритов до нитратов, т. е. образовывать доступные для растений формы азота [7]. Среднее значение нитритредуктазной активности техногенных поверхностных образований представлено на рисунке 4.

Активность нитритредуктазы образцов, отобранных с поверхностного слоя Барзас-

ского угольного отвала, выше в 8,14 раза, чем у образцов, отобранных с поверхностного слоя Моховского угольного отвала.

Оценку аспарагиназной активности проводили с целью изучения приспособленности аборигенной микрофлоры к условиям техногенных поверхностных образований (к действию полизагрязнения ТМ) [9]. Среднее значение аспарагиназной активности техногенных поверхностных образований представлено на рисунке 5.

Активность аспарагиназы образцов техногенного поверхностного образования, отобранных с Барзасского угольного отвала, выше в 1,17 раза, чем у образцов, отобранных с поверхностного слоя Моховского угольного отвала.

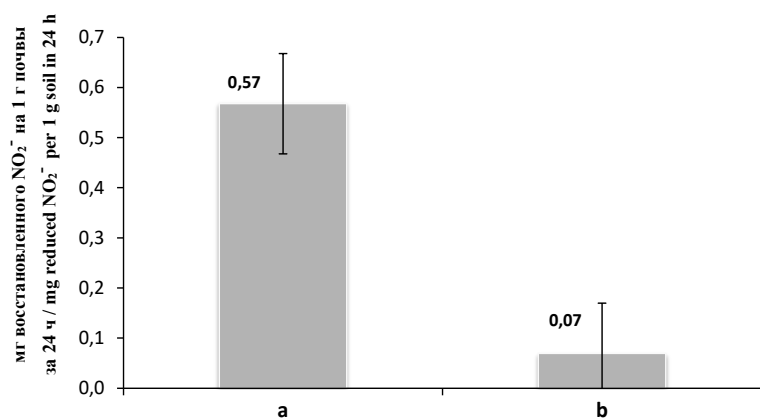


Рис. 4. Среднее значение нитрит-редуктазной активности техногенных поверхностных образований угольных отвалов: а – Барзасский, б – Моховский /

Fig. 4. Average value of nitritereductase activity of technogenic surface formations coal dumps: a – Barzassky, b – Mokhovskiy

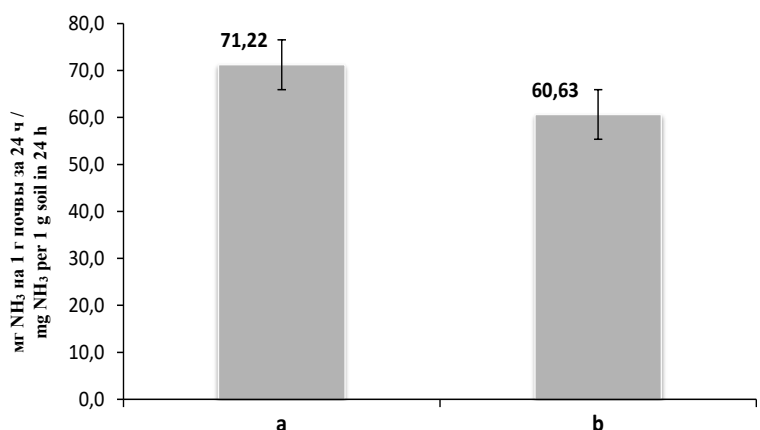


Рис. 5. Среднее значение аспарагиназной активности техногенных поверхностных образований угольных отвалов: а – Барзасский, б – Моховский /

Fig. 5. Average value of asparaginase activity of technogenic surface coal dumps formations: a – Barzassky, b – Mokhovskiy

Полученные данные косвенно свидетельствуют о следующем.

1. Аспарагиназная активность – об интенсивном развитии аборигенной микрофлоры (единственным источником органического азота на территории техногенных поверхностных образований является азот, входящий в состав бактериальных клеток).

2. Присутствие инвертазной активности в образцах техногенных поверхностных образований позволяет использовать только аборигенную микрофлору при разработке консорциума.

3. В состав аборигенной микрофлоры входят штаммы, способные переводить нитритные формы азота, являющиеся недоступными для растений, в доступные нитратные формы.

Стоит отметить, что низкая инвертазная активность и высокая аспарагиназная активность могут свидетельствовать о том, что аборигенная микрофлора техногенных поверхностных образований в качестве основного источника углерода использует ПАУ, алканы и другие углеводороды, и для их расщепления продуцирует ферменты, анализ которых не проводился.

Тяжелые металлы в больших концентрациях негативно влияют на ферментативную активность техногенных поверхностных образований [8]. По литературным данным, на территориях угольных отвалов Кемеровской области содержание цинка, меди, никеля в несколько раз превышает ПДК [17]. В этой связи необходимо оценить степень загрязненности изучаемых техногенных поверхностных образований данными металлами.

Результаты исследования содержания тяжелых металлов в образцах исследуемых техногенных поверхностных образований представлены в таблице 2.

Из результатов исследований следует, что содержание валовых форм меди, цинка и никеля не превышает ОДК для почв, относящихся к кислым суглинистым, глинистым, близким к нейтральным и нейтральным.

Сравнение проводили именно с этими показателями, поскольку для Кемеровской области – Кузбасса характерно преобладание серых лесных, дерново-подзолистых, подзолистых и других почв с кислой реакцией среды, а также почв, близких к нейтральной и с нейтральной средой [18].

Таблица 2 – Содержание тяжелых металлов техногенных поверхностных образований, отобранных с поверхностного слоя Барзасского и Моховского угольных отвалов /

Table 2 – The content of heavy metals in of technogenic surface formations samples of the Barzassky and Mokhovsky coal dumps

Показатель / Indicator	ПДК, ОДК / МРС, АРС	Угольный отвал / Coal dump	
		Барзасский / Barzassky	Моховский / Mokhovsky
Валовая форма, мг/кг почвы / Gross content, mg/kg of soil			
Медь / Cu	33/66/132*	21,44±1,08	18,36±0,87
Никель / Ni	20/40/80*	42,00±1,94	23,92±1,11
Цинк / Zn	55/110/220*	53,32±2,31	47,96±2,16
Подвижная форма, мг/кг почвы / Movable content mg/kg of soil			
Медь / Cu	3**	5,94±0,21	5,12±0,19
Никель / Ni	4**	10,34±0,43	5,77±0,22
Цинк / Zn	23**	34,21±1,55	26,57±1,12

* Ориентировочно допустимые концентрации (ОДК) химических веществ для различных групп почв: песчаных и супесчаных, кислых суглинистых и глинистых (рН_{KCl} 5,5) согласно ГН 2.1.7.2511-09 /

* Approximately permissible concentration of the chemicals for various soil groups: sandy, acidic loamy and clayey (pH_{KCl} 5,5) according to hygienic standards 2.1.7.2511-09

** Согласно СанПиН 4266-87 / ** According to the SanRaN 4266-87

Высокое содержание валовых форм несмотря на то, что оно не превышает ОДК, является опасным фактором, способным повлиять на биологический этап рекультивации угольных отвалов. Это связано со снижением рН техногенных нарушенных образований за счет продукции органических кислот (в т. ч. за счет в составе корневых экссудатов), что приведет к увеличению подвижности всех изученных ТМ. Так, например, произойдет увеличение растворимости фосфатов и карбонатов меди и соединений никеля, образование сульфатов цинка [19, 20, 21].

При изучении подвижных форм ТМ обнаружено превышение ПДК, примерно: меди (2,0 ПДК и 1,7 ПДК), никеля (2,6 ПДК и 1,5 ПДК), цинка (1,5 ПДК и 1,2 ПДК) для образцов техногенных поверхностных образований Барзасского и Моховского угольных отвалов соответственно. Полученные результаты коррелируют с данными Н. В. Журавлевой и соавторов [22].

Высокое содержание подвижных форм меди в образцах техногенных поверхностных образований Барзасского и Моховского угольных отвалов (5,94 и 5,12 мг/кг почвы соответственно) может привести к нарушению процесса фотосинтеза в клетках растений [23]; превышение ПДК никеля (10,34 и 5,77 мг/кг почвы) может стать причиной ингибирования образования корневой системы растений [24]; высокое содержание цинка (34,21 и 26,57 мг/кг почвы) – причиной хлороза и некроза листьев [25].

Проведен корреляционный анализ влияния содержания валовых и подвижных форм ТМ на ферментативную активность техно-

генных поверхностных образований. Выявлены следующие взаимосвязи:

1. В образцах Барзасского угольного отвала присутствует заметная обратная связь между содержанием меди и нитритредуктазой ($r = -0,62$), высокая – между цинком и нитритредуктазой ($r = -0,74$); заметная прямая связь наблюдается между содержанием никеля и аспарагиназой ($r = 0,61$).

2. В образцах Моховского угольного отвала присутствует заметная обратная связь между содержанием меди, цинка и нитритредуктазой ($r = -0,65$, $-0,57$, соответственно), никеля и инвертазой ($r = -0,50$); заметная прямая связь наблюдается между никелем и аспарагиназой ($r = 0,59$).

С учетом полученных данных, дальнейшие исследования по восстановлению техногенных поверхностных образований будут направлены на скрининг микроорганизмов по следующим критериям:

1. Способность осуществлять биотрансформацию цинка, меди и никеля (перевод токсичных форм металлов в менее токсичные под действием ферментативных окислительно-восстановительных реакций с образованием комплексов металлов с органическими соединениями).

2. Способность продуцировать экзогенные фитогормоны (например, индолил-3-уксусную кислоту, отвечающую за рост боковых корней, ответственных за поглощение ионов тяжелых металлов; цитокинины, регулирующие транспорта цинка; жасмоновую кислоту, считающуюся перспективной биомолекулой для снижения токсичности ТМ) [26, 27, 28].

3. Для эффективного извлечения ТМ из техногенных поверхностных образований Кемеровской области предлагается использовать на биологическом этапе рекультивации растения-гипераккумуляторы. Наиболее перспективными (с учетом содержащихся в почве поллютантов и особенностей климатических условий Кузбасса) являются *A. retroflexus* L. и *Salix schwerinii* E.L. Wolf [29, 30].

Однако одной из проблем применения растений-гипераккумуляторов является ответ эндогенных фитогормонов на стресс, вызванный ТМ, что ведет к снижению накопления ТМ в клетках растительной ткани. Эту проблему может решить разрабатываемый консорциум за счет снижения токсичности ТМ и продукции экзогенных фитогормонов.

Заключение. Активность ферментов техногенных нарушенных образований Барзасского и Моховского угольных отвалов составила: инвертаза – 2,24 и 2,12 мг сахарозы, расщепленной 1 г почвы за 1 час; нитритредуктаза – 0,57 и 0,07 мг восстановленного NO₂⁻ на 1 г почвы за 24 ч; аспарагиназа – 71,22 и 60,63 мг NH₃ на 1 г почвы за 24 ч соответственно. Высокая активность аспарагиназы, отвечающей за превращение органических азотсодержащих соединений в аммиак, свидетельствует об интенсивной жизнедеятельности микроорганизмов и о том, что аборигенная микрофлора угольных отвалов использует в качестве

источников углерода высокомолекулярные углеводороды (ПАУ, алканы и др.).

Содержание валовых форм меди, никеля и цинка в Барзасском и Моховском угольных отвалах не превышает ОДК – 21,44, 18,36 и 42,00; 23,92, 53,32 и 47,96 мг/кг почвы соответственно.

Содержание подвижных форм ТМ, в соответствии с СанПиН 4266-87, превышает предельно допустимые концентрации: меди в 1,7-2,0 раза, никеля – 1,5-2,6, цинка – 1,2-1,5 раза.

Выявлены корреляционные взаимосвязи между ферментативной активностью техногенных нарушенных образований и содержанием в них валовых и подвижных форм тяжелых металлов. Вероятно, в техногенных нарушенных образованиях исследуемых угольных отвалов медь и цинк являются ингибиторами для нитритредуктазы, а никель – активатором для аспарагиназы. Кроме того, в Моховском угольном отвале никель может являться ингибитором инвертазы.

В соответствии с полученными результатами дальнейшая работа будет направлена на изучение состава аборигенной микрофлоры техногенных поверхностных образований исследованных территорий, микроорганизмов-деструкторов, ризобактерий и растений-гипераккумуляторов, которые в дальнейшем будут применяться на биологическом этапе рекультивации.

Список литературы

1. Фасхутдинова Е. Р., Осинцева М. А., Неверова О. А. Перспективы использования микробиома почв угольных отвалов с целью ремедиации антропогенно нарушенных экосистем. Техника и технология пищевых производств. 2021;51(4):883-904. DOI: <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-883-904>
- Faskhutdinova E. R., Osintseva M. A., Neverova O. A. Prospects of Using Soil Microbiome of Mine Tips for Remediation of Anthropogenically Disturbed Ecosystems. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv* = Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(4):883-904. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-883-904>
2. Асякина Л. К., Дышлюк Л. С., Просеков А. Ю. Мировой опыт в области рекультивации посттехногенных ландшафтов. Техника и технология пищевых производств. 2021;51(4):805-818. DOI: <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-805-818>
- Asyakina L. K., Dyshlyuk L. S., Prosekov A. Yu. Reclamation of Post-Technological Landscapes: International Experience. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv* = Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(4):805-818. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-805-818>
3. Фотина Н.В., Емельяненко В.П., Воробьева Е.Е., Бурова Н.В., Остапова Е.В. Современные биологические методы восстановления и очистки нарушенных угледобычей земель в условиях Кемеровской области – Кузбасса. Техника и технология пищевых производств. 2021;51(4):869-882. DOI: <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-869-882>
- Fotina N. V., Emelianenko V. P., Vorob'eva E. E., Burova N. V., Ostapova E. V. Contemporary Biological Methods of Mine Reclamation in the Kemerovo Region – Kuzbass. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv* = Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(4):869-882. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-869-882>
4. Симонова О. А., Чеглакова О. А. Влияние удобрений на содержание и динамику подвижных соединений меди и цинка в дерново-подзолистой почве. Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2017;(6):30-34. Режим доступа: <https://www.agronauka-sv.ru/jour/article/view/172>
- Simonova O. A., Cheglakova O. A. Influence of fertilizers on content and dynamics of mobile forms of copper and zinc in sod-podzolic soil. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* = Agricultural Science Euro-North-East. 2017;(6):30-34. (In Russ.). URL: <https://www.agronauka-sv.ru/jour/article/view/172>
5. Drozdova M. Yu., Pozdnyakova A. V., Osintseva M. A., Burova N. V., Minina V. I. The microorganism-plant system for remediation of soil exposed to coal mining. Foods and raw materials. 2021;9(2):406-418. DOI: <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-2-406-418>

6. Myszyra M., Zukowska G., Kobylka A., Mazurkiewicz J. Enzymatic activity of soils forming on an afforested heap from an opencast sulphur mine. *Forests*. 2021;12(11):1469. DOI: <https://doi.org/10.3390/f12111469>
7. Assemien F. L., Cantarel A. A., Florio A., Lerondelle C., Pommier T., Gonnety J. T., Roux X. L. Different groups of nitrite-reducers and N₂O-reducers have distinct ecological niches and functional roles in West African cultivated soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 2019;129:39-47. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.11.003>
8. Fan L., Tarin M., Yangyang Z., Yongzhen H., Rong J., Xinhang C., Liguang C., Chengkun S., Yushan Z. Patterns of soil microorganisms and enzymatic activities of various forest types in coastal sandy land. *Global Ecology and Conservation*. 2021;28:e01625. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2021.e01625>
9. Sobat M., Asad S., Kabiri M., Mehrshad M. Metagenomic discovery and functional validation of L-asparaginases with anti-leukemic effect from the Caspian Sea. *iScience*. 2021;24(1):101973. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101973>
10. Yinping B., Feng L., Gang Y., Shengwei S., Faqin D., Mingxue L., Xiaoqin N., Jiangbo H. Meta-analysis of experimental warming on soil invertase and urease activities, *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B. Soil and Plant Science*. 2018;68(2):104-109. DOI: <https://doi.org/10.1080/09064710.2017.1375140>
11. Meyer W., Seiler T.B., Schwarzbauer J., Püttmann W., Hollert H., Achten C. Polar polycyclic aromatic compounds from different coal types show varying mutagenic potential, EROD induction and bioavailability depending on coal rank. *Sci. Total Environ*. 2014;494-495:320-328. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.140>
12. Mathew B., Singh H., Biju V., Beeregowda K. Classification, source and effect of environmental pollutants and its biodegradation. *Journal of Environmental Pathology. Toxicology and Oncology*. 2017;36(1):55-71. DOI: <https://doi.org/10.1615/JEnvironPatholToxicolOncol.2017015804>
13. Sun X., Ye Y., Guan Q., Jones D. L. Organic mulching masks rhizosphere effects on carbon and nitrogen fractions and enzyme activities in urban greening space. *J Soils Sediments*. 2021;21:1621-1632. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11368-021-02900-7>
14. Liu X., Wang J., Wu L., Zhang L., Si Y. Impacts of silver nanoparticles on enzymatic activities, nitrifying bacteria, and nitrogen transformation in soil amended with ammonium and nitrate. *Pedosphere*. 2021;31(6):934-943. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1002-0160\(21\)60036-x](https://doi.org/10.1016/s1002-0160(21)60036-x)
15. El-Gendy M., Awad M., Shawky F., El-Bondkly A. Production, purification, characterization, antioxidant and antiproliferative activities of extracellular L-asparaginase produced by *Fusarium equiseti* AHMF4. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2021;28(4):2540-2548. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.01.058>
16. Саадалов Т., Мырзаibraимов Р. М., Абдуллаева Ж. Д. Методика расчета коэффициента корреляции Фехнера и Пирсона, и их области применения. *Бюллетень науки и практики*. 2021;7(10):270-276. DOI: <https://doi.org/10.33619/2414-2948/71>
- Saadatov T., Myrzaibraimov R. M., Abdullaeva Zh. D. Calculating procedure for the correlation coefficient of Fechner and Pearson and their application areas. *Bulletin of Science and Practice*. 2021;7(10):270-276. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.33619/2414-2948/71>
17. Тарасова Н. П., Осипов К. Ю., Осипова Н. А., Язиков Е. Г. Тяжелые металлы в почвах в районах воздействия угольных предприятий и их влияние на здоровье населения. *Безопасность в техносфере*. 2015;4(2):16-26. DOI: <https://doi.org/10.12737/11329>
- Tarasova N. P., Osipov K. Yu., Osipova N. A., Yazikov E. G. Heavy metals in soils affected by coal enterprises and their impact on human health. *Bezopasnost' v tekhnosfere* = Safety in Technosphere. 2015;4(2):16-26. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.12737/11329>
18. Хмелев В. А., Танасиенко А. А. Почвенные ресурсы Кемеровской области и основы рационального их использования. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2013. 477 с.
- Khmelev V. A., Tanasienko A. A. Soil resources of the kemerovo region and the basics of its rational use. Novosibirsk: *Izd-vo SO RAN*, 2013. 477 p.
19. Borah P., Gujre N., Rene E. R., Rangan L., Paul R. K., Karak T., Mitra S. Assessment of mobility and environmental risks associated with copper, manganese and zinc in soils of a dumping site around a Ramsar site. *Chemosphere*. 2020;254:126852. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126852>
20. Сорокин А. Е., Савич В. И., Янькова А. А. Агроэкологическая оценка дерново-подзолистого почвы по содержанию никеля в зависимости от pH среды и комплексобразования. *Владимирский земледелец*. 2020;1(91):22-26. DOI: <https://doi.org/10.24411/2225-2584-2020-10104>
- Sorokin A. E., Savich V. I., Yankova A. A. Agricultural and ecological assessment of soddy-podzolic soil on nickel content depending on pH environmental conditions and complex formation. *Vladimirskiy zemledelets* = Vladimir agriculturalist. 2020;1(91):22-26. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.24411/2225-2584-2020-10104>
21. Natasha N., Shahid M., Bibi I., Iqbal J., Khalid S., Murtaza B., Bakha H. F., Farooq A. B. U., Amjad M., Hamad H. M., Niazi N. K., Arshad M. Zinc in soil-plant-human system: A data-analysis review. *Science of The Total Environment*. 2022;808:152024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152024>
22. Журавлева Н. В., Иванькина О. В., Исмагилов З. Р., Потоккина Р. Р. Содержание токсичных элементов во вскрышных и вмещающих породах угольных месторождений Кемеровской области. *Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал)*. 2015;3:187-196. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23028484>
- Zhuravleva N. V., Ivanykina O. V., Ismagilov Z. R., Potokina R. R. The content of toxic elements in overburden and enclosing rocks of coal deposits of the Kemerovo region. *Gornyy in-formatsionno-analiticheskiy byulleten'* (nauchno-tekhnicheskii zhurnal) = Mining informational and analytical bulletin (scientific and technical journal). 2015;3:187-196. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23028484>

23. Angulo-Bejarano P. I., Puente-Rivera J., Cruz-Ortega R. Metal and Metalloid Toxicity in Plants: An Overview on Molecular Aspects. *Plants*. 2021;10(4):635-663. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants10040635>
24. Hassan M., Chattha M., Khan I., Chattha M., Aamer M., Nawaz M., Ali A., Khan M., Khan T. Nickel toxicity in plants: Reasons, toxic effects, tolerance mechanisms, and remediation possibilities – a review. *Environmental Science and Pollution Research*. 2019;26:12673-12688. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04892-x>
25. Küpper H., Andresen E. Mechanisms of metal toxicity in plants. *Metallomics*. 2016;8(3):269-285. DOI: <https://doi.org/10.1039/c5mt00244c>
26. Malhotra S., Mishra V., Karmakar S., Sharma R. S. Environmental predictors of indole acetic acid producing rhizobacteria at fly ash dumps: nature-based solution for sustainable restoration. *Frontiers in Environmental Science*. 2017;5:59-70. DOI: <https://doi.org/10.3389/fenvs.2017.00059>
27. Gao S., Xiao Y., Xu F., Gao X., Cao S., Zhang F., Wang G., Sanders D., Chu C. Cytokinin-dependent regulatory module underlies the maintenance of zinc nutrition in rice. *New Phytol*. 2019;224(1):202-215. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.15962>
28. Ahmad P., Alyemeni M. N., Wijaya L., Alam P., Ahanger M. A., Alam S. A. Jasmonic acid alleviates negative impacts of cadmium stress by modifying osmolytes and antioxidants in faba bean (*Vicia faba* L.). *Arch. Agron. Soil Sci.* 2017;63(13):1889-1899. DOI: <https://doi.org/10.1080/03650340.2017.1313406>
29. Salam M., Kaipainen E., Mohsin M., Villa A., Kuittinen S., Pulkkinen P., Pelkonen P., Mehtätalo L., Pappinen A. Effects of contaminated soil on the growth performance of young *Salix* (*Salix schwerinii* E. L. Wolf) and the potential for phytoremediation of heavy metals. *Journal of Environmental Management*. 2016;183(3):467-477. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.08.082>
30. Ghazaryan H. K. A., Movsesyan H. S., Minkina T. M., Sushkova S. N., Rajput V. The identification of phytoextraction potential of *Melilotus officinalis* and *Amaranthus retroflexus* growing on copper- and molybdenum-polluted soils. *Environ. Geochem. Hlth.* 2021;43:1327-1335. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10653-019-00338-y>

Сведения об авторах

✉ **Фролова Анна Сергеевна**, младший научный сотрудник лаборатории фиторемедиации техногенно нарушенных экосистем, ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», ул. Красная, д. 6, г. Кемерово, Российская Федерация, 650000, e-mail: rector@kemsu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3988-8521>, e-mail: flyflyflyflyfly.af@mail.ru

Переверзева Мария Константиновна, младший научный сотрудник лаборатории фиторемедиации техногенно нарушенных экосистем, ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», ул. Красная, д. 6, г. Кемерово, Российская Федерация, 650000, e-mail: rector@kemsu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5846-6557>

Асякина Людмила Константиновна, кандидат технических наук, заведующий лабораторией фиторемедиации техногенно нарушенных экосистем, ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», ул. Красная, д. 6, г. Кемерово, Российская Федерация, 650000, e-mail: rector@kemsu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4988-8197>

Голубцова Юлия Владимировна, доктор технических наук, проректор по развитию имущественного комплекса, ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», ул. Красная, д. 6, г. Кемерово, Российская Федерация, 650000, e-mail: rector@kemsu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2958-4172>

Осинцева Мария Алексеевна, кандидат технических наук, начальник управления проектной деятельностью, ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», ул. Красная, д. 6, г. Кемерово, Российская Федерация, 650000, e-mail: rector@kemsu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4045-8054>

Information about the authors

✉ **Anna S. Frolova**, junior researcher, the Laboratory of Phytoremediation of Technogenically Disturbed Ecosystems, Kemerovo State University, Krasnaya str., 6, Kemerovo, Russian Federation, 650000, e-mail: rector@kemsu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3988-8521>, e-mail: flyflyflyflyfly.af@mail.ru

Maria K. Pereverzeva, junior researcher, the Laboratory of Phytoremediation of Technogenically Disturbed Ecosystems, Kemerovo State University, Krasnaya str., 6, Kemerovo, Russian Federation, 650000, e-mail: rector@kemsu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5846-6557>

Ludmila K. Asyakina, PhD in Engineering, Head of the Laboratory of Phytoremediation of Technogenically Disturbed Ecosystems, Kemerovo State University, Krasnaya str., 6, Kemerovo, Russian Federation, 650000, e-mail: rector@kemsu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4988-8197>

Yulia V. Golubtsova, DSc in Engineering, vice-rector for the development of the property complex, Kemerovo State University, Krasnaya str., 6, Kemerovo, Russian Federation, 650000, e-mail: rector@kemsu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2958-4172>

Maria A. Osintseva, PhD in Engineering, Head of the Department of Project Activity, Kemerovo State University, Krasnaya str., 6, Kemerovo, Russian Federation, 650000, e-mail: rector@kemsu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4045-8054>

✉ – Для контактов / Corresponding author