

Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«ЮЖНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи



ПУЛИКОВА ЕЛИЗАВЕТА ПЕТРОВНА

**МИКРОБНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ АЗОТА В ТЕХНОГЕННО
НАРУШЕННЫХ ПОЧВАХ ЧЕРНОЗЕМНОЙ ЗОНЫ ЮГА РОССИИ**

1.5.19. Почвоведение (биологические науки)

1.5.15. Экология (биологические науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Ростов-на-Дону – 2025

Работа выполнена на кафедре почвоведения и оценки земельных ресурсов
Академии биологии и биотехнологии имени Д.И. Ивановского
Южного федерального университета

**Научные
руководители:**

Минкина Татьяна Михайловна,
доктор биологических наук, профессор, ФГАОУ ВО
«Южный федеральный университет»,
Академия биологии и биотехнологии им. Д. И.
Ивановского, кафедра почвоведения и оценки
земельных ресурсов, заведующий;
Горовцов Андрей Владимирович,
кандидат биологических наук, ФГАОУ ВО «Южный
федеральный университет», Академия биология и
биотехнологии им. Д.И. Ивановского, кафедра
биохимии и микробиологии, доцент.

**Официальные
оппоненты:**

Степанов Алексей Львович,
доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО
«Московский государственный университет им. М.В.
Ломоносова», кафедра биологии почв, заведующий;
Андроханов Владимир Алексеевич,
доктор биологических наук, ФГБУН «Институт
почвоведения и агрохимии СО РАН», директор.

Защита диссертации состоится **29 сентября 2025 г. в 13:00** на заседании диссертационного совета ЮФУ801.01.13 по биологическим наукам на базе Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета по адресу: 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1, к. 712.

С диссертацией можно ознакомиться в Зональной научной библиотеке им. Ю.А. Жданова Южного федерального университета по адресу: 344090, г. Ростов-на-Дону, ул. Р. Зорге, 21Ж и на сайте Южного федерального университета <https://hub.sfedu.ru/diss/show/1345960/>

Автореферат разослан «__» _____ 2025 г.

Отзыв на автореферат в 2-х экз. (с указанием даты, полностью ФИО, учёной степени со специальностью, звания, организации, подразделения, должности, адреса, телефона, e-mail), заверенный печатью организации, просим направлять по адресу: 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1, к. 707, ученому секретарю диссертационного совета ЮФУ801.01.13 Бурачевской М.В., а также в формате .pdf на e-mail: mburachevskaya@sfedu.ru.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
к.б.н., ведущий
научный сотрудник



Бурачевская Марина Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Азот (N) является ключевым элементом биогеохимических циклов. Техногенное загрязнение тяжелыми металлами (ТМ), полициклическими ароматическими углеводородами (ПАУ) нарушает баланс азотного цикла, усиливая эмиссию оксида азота (I) (N_2O) и потерю минеральных форм азота (Hui-Juan et al., 2018). Процессы трансформации азота более чувствительны к загрязнению, чем процессы цикла углерода, что делает их репрезентативными индикаторами экологического состояния почв (Pulikova, Gorovtsov, 2022).

Изучение динамики трансформации азота в почвах и использование микробных консорциумов может стать ключевым инструментом для восстановления почвенного покрова (Kumari, Maiti, 2022; Pulikova et al., 2024). Совместное применение ПАУ-деградирующих и нитрифицирующих микроорганизмов демонстрирует потенциал для эффективной ремедиации почв в условиях чередования аэробных и анаэробных фаз, где нитрат служит акцептором электронов в анаэробной деградации ПАУ (Ribeiro et al., 2018). Нитрификаторы-хемолитотрофы не только участвуют в процессах цикла азота, но и секвестрируют диоксид углерода (CO_2), способствуя развитию низкоуглеродных стратегий (Liang, 2020).

Для разработки способов ремедиации антропогенно-преобразованных почв и почвоподобных техногенных образований (техноземов) важно изучить адаптационный потенциал почвенного сообщества нитрифицирующих микроорганизмов в условиях загрязнения ТМ и ПАУ (Liu et al., 2019). Установление механизмов адаптации микробных сообществ к длительному экстремальному загрязнению, позволит восстановить активность даже самых чувствительных к загрязнению микроорганизмов – автотрофных нитрификаторов или заменить их более устойчивой альтернативной группой – гетеротрофными нитрификаторами (Naz et al., 2022).

Цель исследования: изучить процессы цикла азота в техногенно нарушенных почвах углеотвалов и бывшего шламонакопителя, а также эффективность применения нитрифицирующих бактерий в деструкции ПАУ.

Основные задачи исследования:

1. Проанализировать микробную трансформацию азота в почвах углеотвалов для выявления наиболее чувствительного к техногенному воздействию процесса.
2. Оценить состав и адаптационный потенциал сообщества нитрификаторов при длительном загрязнении почв бывшего шламонакопителя экстремально высокими концентрациями Zn.
3. Изучить процессы нитрификации в почвах при краткосрочном искусственном загрязнении Zn.
4. Оценить эффективность применения накопительной культуры нитрифицирующих микроорганизмов при ремедиации почв углеотвалов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Активность автотрофной нитрификации в техногенно нарушенных почвах углеотвалов является более чувствительной к загрязнению ТМ по сравнению с активностью ферментов цикла азота: нитратредуктазы, нитритредуктазы и уреазы. Засоление и подкисление почвы увеличивают подвижность ТМ и усиливают их отрицательное действие на процессы нитрификации. Накопление ПАУ в эмбриоземах в концентрации свыше 6 000 нг/г не оказывает выраженного ингибирующего воздействия на нитрификацию. В черноземе обыкновенном, лугово-черноземной почве и почвах углеотвалов доминируют аммоний-окисляющие археи *Nitrososphaerota*.

2. При краткосрочном загрязнении Zn лугово-черноземной почвы активность нитрификации снижается значительно, чем при длительном экстремальном загрязнении Zn хемоземов бывшего шламонакопителя. Многолетнее экстремальное загрязнение почв полностью изменяет состав нитрифицирующего сообщества: среди автотрофов доминируют комаммокс бактерии *Nitrospirota*, а среди гетеротрофов – бактерии, окисляющие пировиноградный оксим. В геномах нитрификаторов отмечается высокое обилие генов *copB*, *cusAB*, *czcABC*, *zntA*, *zurT*, ответственных за синтез белков системы экспорта ТМ из клетки.

3. Консорциум бактерий, состоящий из окисляющей аммоний *Nitrosomonas communis*, окисляющей нитрит *Nitrolancea* и денитрифицирующего ПАУ-деструктора *Enterobacter ludwigii*, является эффективным при ремедиации загрязненных ПАУ почв. Нитрификаторы усиливают деградацию ПАУ в почве за счет образования нитрата как акцепторов электронов.

Научная новизна. Впервые проанализирована активность ферментов гетеротрофной нитрификации – диоксигеназы пировиноградного оксима и нитроалканоксидазы в почвах. Впервые проанализирована активность автотрофной и гетеротрофной нитрификации в загрязненных почвах для сравнения устойчивости данных процессов к воздействию поллютантов. Обнаружено, что при длительном экстремальном загрязнении Zn в почве формируется сообщество нитрификаторов с доминированием комаммокс-бактерий *Nitrospirota* и бактерий, окисляющих пировиноградный оксим. Предложено использование консорциума из денитрифицирующих и деградирующих ПАУ бактерий и автотрофных нитрификаторов для увеличения эффективности ремедиации техногенно нарушенных почв за счет образования нитрата как акцептора электронов.

Теоретическое и практическое значение. Изучен адаптационный потенциал сообщества нитрифицирующих микроорганизмов в экстремально загрязненных почвах. Отмечено доминирование аммоний-окисляющих архей в незагрязненных почвах и почвах углеотвалов и комаммокс бактерий, гетеротрофных нитрификаторов в хемоземах бывшего шламонакопителя. Рассмотрены новые механизмы детоксикации микроорганизмами токсичных

соединений – гидроксилamina и окиси азота, образующихся в процессе нитрификации в загрязненных почвах.

Предложен новый принцип, согласно которому деградация ПАУ усиливается за счет образования нитрифицирующими микроорганизмами акцептора электрона – нитрата. Получен микробный консорциум из автотрофных нитрификаторов и денитрификатора, применение которого позволяет эффективно восстанавливать загрязненные ПАУ почвы за счет деградации фенантрена и пирена.

Апробация результатов. Основные положения диссертационной работы докладывались и обсуждались на международных и российских конференциях, международных научных школах, форумах и съездах: «Эволюция почв и развитие научных представлений в почвоведении» в 2022; «Ломоносов» в 2022 и 2024; «Инженерная экология» в 2023, «Мониторинг, охрана и восстановление почвенных экосистем в условиях антропогенной нагрузки» в 2022, 2023 и 2024; «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов» в 2022; «Современное состояние черноземов» в 2023; «Степная Евразия – устойчивое развитие» в 2022; «Матрица почвоведения» в 2023; «Эволюция биосферы, биогеохимические циклы и биогеохимические технологии: связь фундаментальных и прикладных исследований» в 2023; «Здоровье почвы – гарант устойчивого развития» в 2023; X съезд Общества почвоведов им. В.В. Докучаева в 2024.

Личный вклад автора. Экспериментальная работа, обработка, анализ и описание результатов выполнены лично автором в период с 2021 по 2025 год. Лабораторные анализы проведены на кафедре почвоведения и оценки земельных ресурсов, а также в лаборатории «Биоинженерия ризосферы» Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета.

Публикации. По теме диссертационного исследования опубликовано 6 работ, входящих в международные библиографические и реферативные базы данных Scopus и Web of Science, 5 из которых опубликованы в журналах первого и второго квартalia.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, 7 глав, выводов и списка литературы. Работа изложена на 143 страницах, содержит 15 таблиц, 35 рисунков. Список литературы включает 292 источника, из них 269 на иностранных языках.

Финансовая поддержка работы. Работа была выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2023-587 и Программы стратегического академического лидерства Южного федерального университета («Приоритет 2030»).

Благодарности. Автор выражает особую благодарность научному руководителю доктору биологических наук, профессору Т.М. Минкиной за руководство и содействие в написании работы, и научному руководителю доценту кафедры биохимии и микробиологии Академии биологии и биотехнологии Южного федерального университета кандидату биологических наук А.В. Горовцову за руководство, поддержку и ценные советы. Автор

выражает благодарность К.А. Дёмину за содействие в обработке метагеномных данных, и всем сотрудникам кафедры почвоведения и оценки земельных ресурсов, сотрудникам кафедры экологии и природопользования, сотрудникам лаборатории «Агробиотехнологии для повышения плодородия почв и качества сельскохозяйственной продукции», научно-исследовательской лаборатории мониторинга биосферы Академии биологии и биотехнологии Южного федерального университета и сотрудникам Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН за помощь в проведении исследований на разных этапах.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Обзор включает разделы, в которых рассмотрены свойства техногенно нарушенных почв, в том числе биологическая активность. Описаны основные процессы цикла азота: аммонификация, азотфиксация, денитрификация и нитрификация, отдельно рассмотрен процесс гетеротрофной нитрификации. Уделено внимание влиянию ТМ и ПАУ на процессы цикла азота, а также на микробиом и адаптационные механизмы микробного сообщества к высоким концентрациям поллютантов. В связи с тем, что в работе с целью ремедиации почв был создан консорциум нитрификаторов и денитрифицирующих бактерий, деградирующих ПАУ, в обзоре литературы приведены примеры совместного обитания гетеротрофных и автотрофных микроорганизмов.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для оценки влияния химического загрязнения на микробиологические процессы цикла азота отобраны образцы 0-20 см слоя загрязненных почв с подножья углеотвала шахты «Аютинская» и его склона, перекрытого глинистым материалом: эмбриозема (Epileptic Technosols по WRB, 2022) и технозема (Spolic Technosols по WRB, 2022), соответственно, а также эмбриозема с подножья углеотвала шахты «Майская» (город Шахты, Ростовская область). В качестве фоновой незагрязненной почвы для сравнения с почвами районов угледобычи исследован чернозем обыкновенный карбонатный (Calcic Chernozem по WRB, 2022; чернозем миграционно-сегрегационный по Классификации почв России, 2004) особо охраняемой природной территории «Персиановская заповедная степь», расположенной в 22 и 33 км от углеотвалов шахт «Майская» и «Аютинская», соответственно. Для анализа адаптационного потенциала сообщества нитрифицирующих микроорганизмов выбраны хемоземы (Spolic Technosols по WRB, 2022) с экстремальным уровнем загрязнения ТМ (Zn, Cu, Pb, Cd), расположенные в районе бывшего озера Сорное в пойме реки Северский Донец в Каменск-Шахтинском районе Ростовской области (рис. 1). Для определения влияния краткосрочного загрязнения ТМ на активность нитрификации проведен модельный эксперимент по изучению влияния Zn как доминирующего поллютанта на состояние сообщества нитрифицирующих микроорганизмов тяжелосуглинистых почв естественного ландшафта. В качестве фоновой

почвы использована незагрязненная лугово-черноземная почва (Stagnic Fluvisol Humic по WRB, 2022; чернозем гидротематоморфизованный по Классификации почв России, 2004) поймы реки Северский Донец вблизи (от 1 км) бывшего шламонакопителя озера Сорное.



Рисунок 1 – Схематическая карта мест отбора эмбриоземов, техноземов углеотвалов шахт «Аютинская» и «Майская» и хемоземов бывшего шламонакопителя озера Сорное

Культура ПАУ-деградирующего микроорганизма выделена из эмбриозема углеотвала шахты Самбековская (г. Новошахтинск, Ростовская область) методом микробиологического посева. Суммарное содержание ПАУ в почве составляло 6826 нг/г, а содержание бенз[а]пирена превышало ПДК в 19,1 раза. Для получения накопительной культуры нитрифицирующих микроорганизмов выбран техногенно нарушенный чернозем обыкновенный вблизи углеотвала с наибольшей активностью нитрификации и высоким обилием нитрифицирующих микроорганизмов (M7). Выбранный образец характеризуется высоким суммарным содержанием ПАУ – 6368 нг/г.

Образцы фоновой почвы, техногенно нарушенных почв углеотвалов и бывшего шламонакопителя были отобраны в летний период. Гранулометрический состав определялся методом пипетки с пирофосфатной процедурой подготовки почвы (Вадюнина, Корчагина, 1986; рН – по ГОСТ 26423-85; S_{org} , $CaCO_3$ и влажности – согласно (Аринушкина, 1970); содержание сухого остатка – по ГОСТ 26423-85; водорастворимого органического вещества (ВОВ) – согласно (Zamulina et al., 2021); органического углерода (S_{org}^{700}), включая сажу и антрацит, определяли сжиганием почвы при 700 °С (3 ч, в муфельной печи СНОЛ 10/11-В (Технотерм, Россия)) (Cumming, 1989; Gustafsson et al., 1996); емкость катионного обмена (ЕКО) – по ГОСТ 17.4.4.01-84; содержание С, N и S

определяли с помощью элементного анализатора ЕМА 502 CHNS-O в соответствии с ISO 10694 и ISO 13878.

Валовое содержание Mn, Ni, Cu, Zn и Pb в почве определяли методом рентгенофлуоресцентного анализа на спектрометре Spectroscan MAX-GV (Спектрон, Россия) (Pukhovski, 2002). Подвижные формы ТМ экстрагированы из почвы с использованием буферного раствора ацетата аммония pH 4,8. Их содержание анализировали методом атомно-абсорбционной спектrophотометрии МГА-915МД (Льюэкс, Россия). Суммарный показатель загрязнения (Z_c) был рассчитан согласно уравнению 1:

$$Z_c = \sum K_c - (n - 1) \quad (1)$$

где K_c – коэффициент концентрации, равный отношению фактического валового содержания/содержания подвижных форм ТМ в почве к его фоновому значению ($K_c = C_i/C_{fi}$), а n – число химических элементов с $K_c > 1$ (СанПиН 1.2.3685-21). Z_c классифицируется по следующим уровням загрязнения (МУ 2.1.7.730-99): допустимый (< 16), умеренный (16–32), опасный (32–128), чрезвычайно опасный (> 128).

Экстракцию ПАУ из образцов почвы проводили гексаном в 3 повторностях. Предварительно мешающая липидная фракция удалялась кипячением 1 г образца в 2% растворе КОН. Концентрацию ПАУ в экстракте определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе Agilent 1260 (ISO 13877-2005). Идентифицированы ПАУ, включенные в список приоритетных загрязняющих веществ США: нафталин, фенантрен, антрацен, аценафтен, аценафтилен, флуорен, пирен, хризен, бензо[а]антрацен, флуорантен, бензо[б]флуорантен, бензо[к]флуорантен, бензо[а]пирен, дибензо[а, h]антрацен, бензо[g, h, i]перилен. Водорастворимые формы азота в виде аммония, нитрита и нитрата определены по ГОСТ 26489-85, ПНД Ф 16.1.2:2.2:3.51-08 и ГОСТ 26488-85, соответственно.

В техногенно нарушенных почвах углеотвалов были проанализированы основные процессы цикла азота с целью установления наиболее чувствительного к техногенному воздействию показателя. Разведения почвы готовили по стандартной методике. Численность аммонифицирующих бактерий определяли методом учета колоний на мясо-пептонном питательном агаре (Нетрусов и др., 2005). Активность уреазы определяли с помощью модифицированного индофенольного метода (Kandeler et al., 2011). Для оценки численности денитрифицирующих организмов использовали метод наиболее вероятного числа (НВЧ) денитрификаторов (Rathsack, 2014). Активность нитрат- и нитритредуктазы определяли методом Галстяна (Хазиев, 2005).

Экспресс метод определения потенциальной скорости нитрификации автотрофными бактериями и археями проводили путем краткосрочной инкубации почвенных образцов с добавлением сульфата аммония (2–4 часа, ISO 15685). Для селективного определения активности архей, окисляющих аммоний, в почву вносили раствор аллилюриевой кислоты (2 мкМ) (Shen et al., 2013), а для определения активности процесса полного окисления аммония (комаммокс) – раствор хлората (1 мМ) (Wang et al., 2020; Sun et al., 2022).

Общая и гетеротрофная нитрифицирующая активность определена на основе накопления нитрита и нитрата в течение 7-дневного инкубационного периода. К образцам почвы добавляли источники азота в концентрации 200 мкг/г почвы: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, нитропропан и пировиноградный оксим.

Микроорганизмы-деструкторы ПАУ выделены из почв методом микробиологического посева. Отобранные микроорганизмы-деструкторы идентифицировали методом секвенирования гена 16S рНК. Активность нитритредуктазы и нитратредуктазы у бактерий оценивали по способности утилизировать нитрит и по образованию нитрита из нитрата, соответственно (Vuxton, 2011). Таким образом, был выделен штамм (99,65% идентичности с *Enterobacter ludwigii*), способный деградировать фенантрен и осуществлять денитрификацию. Активность нитрат- и нитритредукции составляла $2,6 \pm 0,06$ и $0,22 \pm 0,05$ мкг N/мл суспензии штамма, соответственно.

Для получения накопительной культуры нитрифицирующих микроорганизмов в колбу со средой Виноградского вносили почву в соотношении 1:10 (ГОСТ Р 54653-2011). Накопительную культуру инкубировали при температуре 30 °С без доступа света. Активность нитрификации определяли в соответствии с методикой ISO 15685. Для тестирования устойчивости накопительной культуры нитрификаторов к поллютантам в конические колбы вносили растворы аммония и хлората, затем вносили нафталин, бифенил, фенантрен, пирен, растворенные в ДМСО ($10-100\ 000$ нг/г) и растворы солей Cd, Zn, Ni, Pb и Cu ($0,01-10$ мг/кг) (Klimowicz-Pawlas, Maliszewska-Kordybach, 2010; Kapoor et al., 2015; Suszek-Łopatka et al., 2016).

Для анализа деградации ПАУ микроорганизмами (деструкторами, нитрификаторами и их консорциумом) был заложен модельный эксперимент с использованием загрязненной легкосуглинистой почвы углеотвала. Содержание ПАУ составляло 15 000 нг/г, pH – 7,01, $C_{\text{орг}}$ – 4,9%. В почву были внесены *Enterobacter ludwigii* в концентрации 3×10^8 клеток/г почвы и нитрификаторы с активностью окисления аммония и нитрита – $2,02 \pm 0,19$ и $0,98 \pm 0,0$ мкг N/ч/г почвы. На протяжении месяца в почве поддерживалась 60% влагоемкость при температуре 30 °С, после чего было определено остаточное содержание ПАУ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе 1260 Agilent в соответствии со стандартами ISO 13877.

Из техногенно нарушенной почвы выделена тотальная ДНК и проведено ее шотган-секвенирование на платформе MGI (DNBSEQ). Полученный метагеномный датасет подвергли следующей обработке: удаление человеческой ДНК (bowtie2); сбор контигов (metaSPAdes); биннинг контигов (Maxbin2, Metabat2 и CONCOCT); получение консенсусных бинов (DASTool); оценка качества и таксономической принадлежности бинов (CheckM и GTDB-tk). Бины с полнотой сборки > 60% и контаминацией < 15% считали отдельными геномами, собранными из метагенома (MAG).

Все исследуемые параметры определялись в трехкратной повторности. Результаты физических, химических, физико-химических и микробиологических свойств исследуемых образцов почв статистически

обрабатывались с использованием программного обеспечения STATISTICA 12 (StatSoft, США) и R 4.3.2. Тест Краскела-Уоллиса применялся для сравнения активности нитрификации и содержания водорастворимого азота в почвах с разным уровнем загрязнения. Между показателями физических, химических, физико-химических свойств, содержания ТМ и ПАУ, а также биологических свойств рассчитывались коэффициенты корреляции Спирмена. Для определения вклада влияния физических, химических и физико-химических параметров на микробиологические процессы цикла азота в почве использовался анализ главных компонент (РСА).

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Характеристика физических, химических и физико-химических свойств техногенно нарушенных почв

Значения рН в техногенно нарушенных почвах варьируют от нейтральной до щелочной (табл. 1). Содержание $C_{орг}$ в черноземе обыкновенном карбонатном и лугово-черноземной почве выше, чем в технозомах склона углеотвала шахты Аютинская, техногенно нарушенных почвах углеотвала шахты Майская и хемоземах. Содержание $C_{орг}$ в эмбриоземах углеотвала шахты Аютинская сопоставимо со значениями в фоновой почве. Содержание ВОВ в эмбриоземах варьировало от 0,03 до 0,44, тогда как фоновые почвы содержали 1,55 г/кг ВОВ. Значения ЕКО во всех почвах варьирует незначительно от 34,0 до 49,8 ммоль/100 г. Эмбриоземы углеотвалов имеют сульфатное засоление от слабой до сильной степени. Хемоземы характеризовались сульфатным и хлоридно-сульфатным засолением. Гранулометрический состав изученных почв представлен средне- и тяжелосуглинистыми разновидностями.

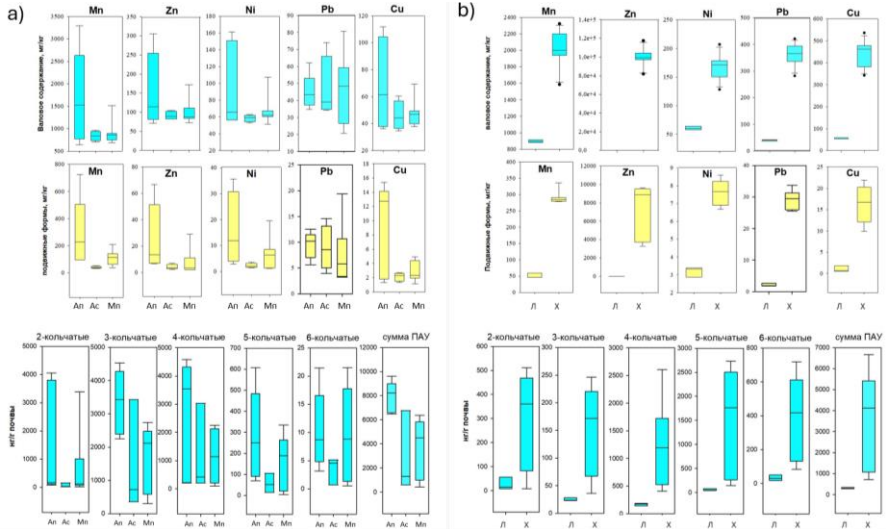
Таблица 1 – Физические, химические и физико-химические свойства чернозема обыкновенного карбонатного, лугово-черноземной почвы и техногенно нарушенных почв, n – количество биологических повторностей

Показатели	рН	CaCO ₃ , %	C _{орг} , %	ЕКО, ммоль/100 г	Сухой остаток, %	Физ. глина, %	Ил, %
Чернозем обыкновенный карбонатный Персиановской степи, n = 3							
Среднее	7,68	0,35	3,77	37,1	0,19	52,0	30,0
Диапазон	7,55-7,81	0,32-0,38	3,62-3,92	34,0-40,2	0,18-0,20	46,2-58,4	27,5-32,5
Эмбриозем углеотвала шахты Аютинская, n = 5							
Среднее	7,41	0,50	3,40	41,2	1,17	37,3	17,4
Диапазон	7,31-7,61	0,01-1,97	2,74-4,23	29,4-59,4	0,16-2,41	20,2-54,8	7,6-24,0

Технозем углеотвала шахты Аютинская, n = 4							
Среднее	8,38	4,42	1,22	40,2	0,10	54,3	29,4
Диапазон	8,29- 8,54	2,51- 6,76	0,27- 2,28	29,8- 49,6	0,08- 0,13	41,9- 58,8	22,1- 32,8
Эмбриозем углеотвала шахты Майская, n = 7							
Среднее	7,61	1,47	1,95	41,5	0,37	45,5	23,9
Диапазон	4,04- 8,80	0,05- 2,22	1,17- 3,34	35,4- 49,8	0,09- 1,60	16,7- 63,2	10,2- 34,0
Лугово-черноземная почва, n = 3							
Среднее	7,32	1,70	2,03	39,5	0,09	53,1	32,4
Диапазон	7,15- 7,5	1,55- 1,86	1,96- 2,10	36,7- 42,3	0,08- 0,10	48,1- 57,9	29,2- 35,6
Хемозем бывшего шламонакопителя озера Сорное, n = 11							
Среднее	8,32	1,1	1,16	39,3	0,35	43,2	15,1
Диапазон	8,15- 8,41	0,52- 1,51	0,05- 1,39	32,3- 43,4	0,12- 0,75	27,3- 52,2	5,16- 38,8

Валовое содержание ТМ в почвах углеотвалов шахт Майская и Аютинская незначительно преобладало над содержанием в фоновом аналоге – черноземе обыкновенном карбонатном. Все изученные почвы имели допустимый уровень загрязнения, кроме эмбриозема А5 (умеренный уровень загрязнения) (рис. 1). Валовое содержание Mn, Zn и Ni в эмбриоземе А5 составляло 3300, 305 и 161 мг/кг, соответственно (рис. 2). Расчет суммарного показателя загрязнения (Zc), проведенный с учетом содержания только подвижных ТМ, показал более высокий Zc, поскольку в загрязненных почвах доля подвижных форм от валового содержания составила до 22% для Mn, Zn, Ni и Cu, тогда как в фоновых почвах не превышала 7%. Эмбриоземы А3, А4 и М2 имели опасный уровень загрязнения (46-83), А5 – чрезвычайно опасный (132). Установлено, что наименее загрязненными почвами среди почв углеотвала шахты Аютинская являются рекультивированные техноземы склона (Zc = 9-14, что соответствует допустимому уровню). Среди техногенно нарушенных черноземов обыкновенных углеотвала шахты «Майская» отмечено снижение Zc с 23 до 11 по мере удаления от подножия углеотвала. Среди ПАУ наиболее приоритетных поллютантов были 3 и 4-кольчатые ПАУ, а именно фенантрен и пирен. Менее загрязненными образцами были техноземы склона углеотвала шахты Аютинская и техногенно нарушенные почвы подножия углеотвала шахты Майская (рис. 2).

Валовое содержание Zn в хемоземах бывшего шламонакопителя составило от 81 до 117 г/кг, а содержание подвижных форм Zn – от 3300 до 9600 мг/кг, что в среднем в 2000 раз выше, чем в лугово-черноземных почвах. Суммарное содержание ПАУ в хемоземах составило в среднем 3500 нг/г, что значительно ниже, чем в эмбриоземах и техноземах углеотвалов (рис. 2).



Ап – подножье углеотвала шахты Аютинская, Ас – склон углеотвала шахты Аютинская, Мп – подножье углеотвала шахты Майская, Л – лугово-черноземная почва, Х – хемозем бывшего шламокопателя

Рисунок 2 – Содержание поллютантов в техногенно нарушенных почвах: а) углеотвалов; б) бывшего шламокопателя

3.2 Характеристика микробиологических свойств техногенно нарушенных почв углеотвалов

В черноземе обыкновенном и техногенно нарушенных почвах углеотвалов были выявлены незначительные различия в составе микробиома. Наблюдалось более высокое обилие представителей *Bradyrhizobium* в фоновых почвах по сравнению с эмбриоземами углеотвалов. Напротив, в почвах углеотвалов наблюдалось увеличение обилия представителей семейства Shingomonadaceae и рода *Sphingomonas* (рис. 3).

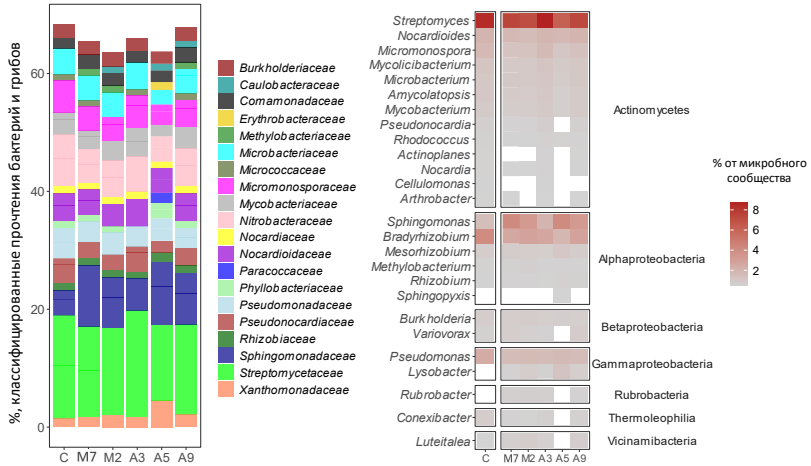


Рисунок 3 – Численность доминирующих родов микроорганизмов в техногенно нарушенных почвах угольных отвалов

Наибольшее количество прочтений, классифицированных как представители родов автотрофных нитрификаторов, обнаружено в техногенно нарушенных почвах А5 и М7 (рис. 4). Эмбриозем А5 характеризуется доминированием аммоний-окисляющих архей (АОА), тогда как в техногенно нарушенном черноземе обыкновенном М7 обнаружено преобладание аммоний-окисляющих бактерий (АОВ). Наименьшее количество прочтений нитрификаторов выявлено в техноземе на склоне углеотвала шахты Аютинская (А9). Несмотря на рекультивационные меры и снижение уровня загрязнения, обилие нитрификаторов не было восстановлено. Среди нитрифицирующих архей преобладали представители родов *Nitrososphaera* и *Candidatus Nitrosocosmicus*. Бактерии, окисляющие аммоний, в основном относятся к родам *Nitrosospira*, *Nitrosomonas* и *Nitrosococcus*, бактерии, окисляющие нитрит, представлены *Nitrospira* и *Nitrobacter*.

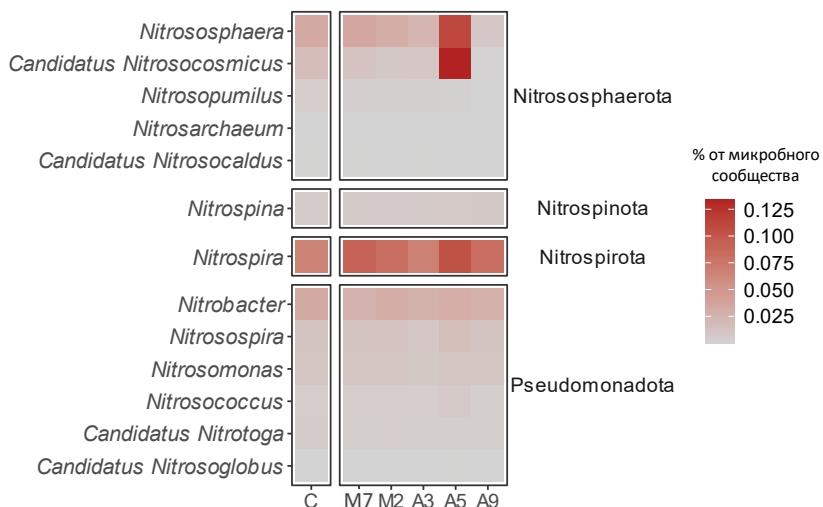
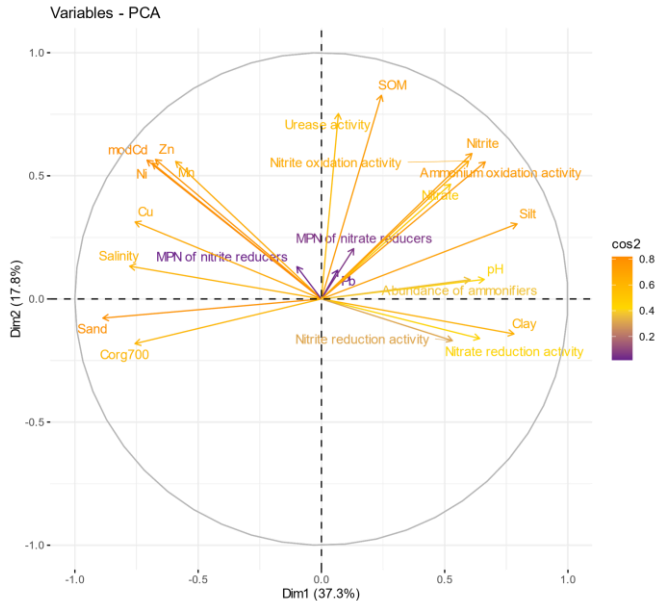


Рисунок 4 – Распространенность доминирующих родов нитрификаторов в эмбриоземах и техноземах удобрительных

Обилие аммонификаторов положительно коррелировало с рН почвы ($r = 0,83$) и отрицательно с концентрацией подвижных форм Zn и содержанием $C_{\text{орг}}^{700}$ ($r = -0,66$ и $-0,58$, соответственно). Активность уреазы достоверно и положительно коррелировала только с содержанием ВОВ ($r = 0,71$). Несмотря на отсутствие корреляции численности денитрифицирующих бактерий с содержанием ТМ, скорость процесса денитрификации (нитрит- и нитратредукции) отрицательно коррелировала с концентрацией подвижных форм Zn ($r = -0,80$ и $-0,69$). Активность окисления аммония и нитрита отрицательно коррелировала с содержанием песчаной фракции ($r = -0,94$ и $-0,79$) и процентом сухого остатка ($r = -0,73$). Скорость окисления аммония отрицательно коррелировала со степенью загрязнения ТМ ($r = -0,64$), скорость окисления нитрита – с содержанием $C_{\text{орг}}^{700}$ ($r = -0,60$). Среди всех проанализированных ПАУ только содержание фенантрена и антрацена положительно коррелировало с активностью нитрификации ($r = 0,64-0,66$), а также содержание бенз[g,h,i]перилена с численностью нитратредукторов ($r = 0,77$).

В ходе проведения РСА были выделены два основных фактора, которые объясняли дисперсию показателей биологической активности на 37,3 и 17,8% (55,1%). Влияние двух факторов на взаимосвязанные стадии одного процесса, такие как окисление аммония и нитрита (нитрификация), восстановление нитрата и нитрита (денитрификация), НВЧ нитрат- и нитритредукторов было одинаковым (рис. 5).



Показаны только значимые корреляции. \cos^2 относится к градиенту качества, чтобы выделить наиболее важные переменные при объяснении вариаций, сохраняемых главными компонентами. SOM – BOB, MPN – НВЧ, modCd – Zc по подвижным формам ТМ

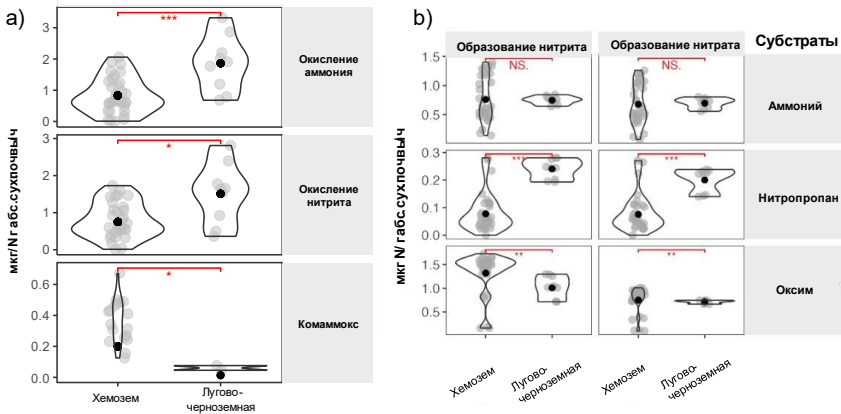
Рисунок 5 – Положение изучаемых параметров в плоскости главных компонент

Фактор 1 из показателей биологических свойств положительно связан с активностью нитратредукцией, нитритредукцией, окислением аммония и обилием аммонификаторов, а из физических, химических и физико-химических – с наличием низких концентраций C_{org}^{700} в почве, с высоким процентом илистой и глинистой фракций, слабощелочным pH почвы, низким содержанием подвижных форм Cu, Zn, Ni и более высоким содержанием нитрита и нитрата в почвах. Фактор 2 был положительно связан с окислением аммония и нитрита и активностью уреазы, а также с содержанием нитрита и BOB. Таким образом, в рекультивированных технозомах склона углеотвала активность уреазы снижена из-за низкого содержания BOB, а численность денитрификаторов из-за высокого процента физической глины повышена. Далее более детально проанализированы процессы нитрификации в почвах с краткосрочным и длительным загрязнением ТМ.

3.3 Влияние длительного и краткосрочного загрязнения ТМ почв на активность нитрификации

Активность автотрофной нитрификации в фоновых лугово-черноземных почвах в 2 раза превышала активность в хемоземах бывшего шламонакопителя (рис. 6а). Содержание нитрата в незагрязненных почвах

повышено в сравнении с загрязненными (21 против 9 мкг/г). В хемоземах бывшего шламонакопителя более чем 50% общей активности обусловлено активностью полных окислителей аммония – комаммокс бактерий. Общая активность окисления аммония и нитрита (автотрофными и гетеротрофными нитрификаторами) достоверно не различалась в хемоземах и лугово-черноземных почвах (рис. 6б), что указывает на значительный вклад гетеротрофных микроорганизмов в этот процесс в хемоземах. В загрязненных почвах активность окисления пировиноградного оксима выше, чем в незагрязненных (1,3 против 1,0 мкг N/г/ч), в то время как активность окисления нитроалканов, наоборот, ниже (0,08 против 0,24 мкг N/г/ч). Предположительно, в хемоземах образуется большое количество токсичных соединений N, в том числе гидроксилamina, поэтому среди гетеротрофных нитрификаторов формируются механизмы ферментативной защиты от него, например, диоксигеназа пировиноградного оксима (POD).

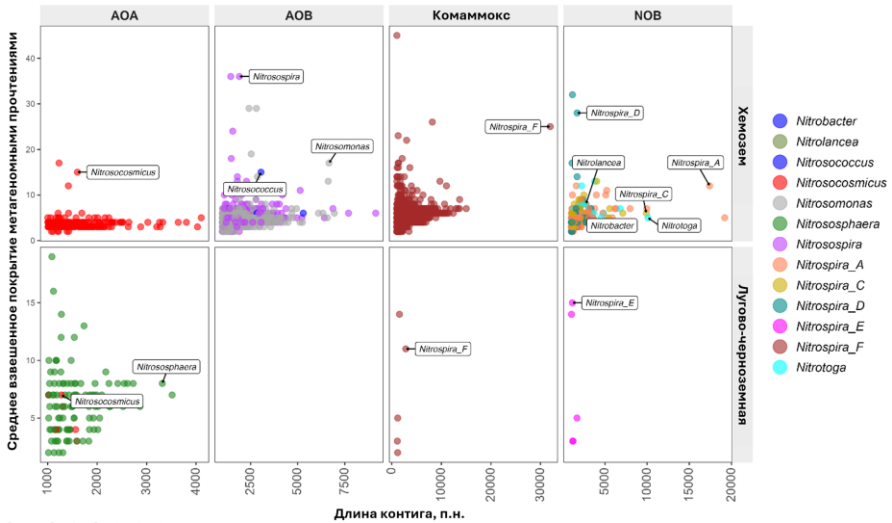


* – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$ и *** – $p < 0,001$, NS – не значимо

Рисунок 6 – Активность автотрофной нитрификации в лугово-черноземных почвах и хемоземах: (а) активность окисления аммония, окисления нитрита и комаммокса автотрофными микроорганизмами, экспресс метод; (б) активность образования нитрита и нитрата из аммония, нитропропана и пировиноградного оксима

Сообщество автотрофных нитрификаторов в экстремально загрязненных почвах представлено родами *Nitrospira*, *Nitrosomonas* и *Nitrosococcus* среди АОВ, *Nitrospira*, *Nitrospina* и *Nitrolancea* среди НОВ. Данные метагеномного анализа подтверждают выводы, полученные при анализе нитрифицирующей активности почв. Обилие *Nitrospira*_F, ответственных за комаммокс, в хемоземах бывшего шламонакопителя значительно выше обилия таковых в лугово-черноземных почвах (рис. 7). В лугово-черноземных почвах доминировали АОА, представленные родами *Nitrososphaera* и *Candidatus Nitrosocosmicus*. Снижение численности и активности АОА в хемоземах объясняется их чувствительностью к режим

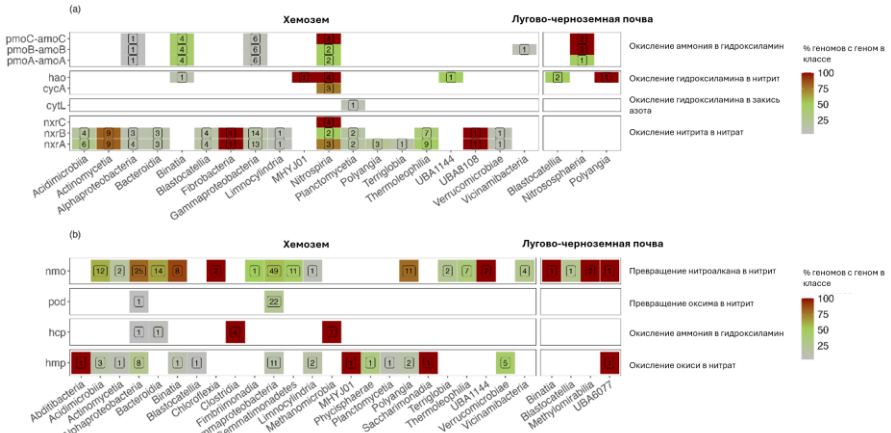
изменениям влажности почвы, которые происходят в летний период в почвах бывшего шламонакопителя, в то время как представители *Nitrospira* более устойчивы к засухе и высокому содержанию ТМ.



Показаны только контиги, которые были классифицированы на уровне рода как нитрифицирующие микроорганизмы

Рисунок 7 – Обилие представителей родов автотрофных нитрификаторов, выраженное в длине и покрытии неотсортированных контигов

В геномах типичных представителей автотрофной нитрификации *Nitrososphaeria* и не каноничных *Nitrospira* обнаружены гены, кодирующие фермент монооксигеназу аммония – *amoCAB*, что свидетельствует о наличии у последних комаммокс процесса (рис. 8). Представители комаммокс-процесса обнаружены только в хемоземах. Также собраны геномы представителей гетеротрофных нитрификаторов, содержащие гены, кодирующие аммоний монооксигеназу, и классифицированные как *Pseudomonadota*. Отсутствие у них генов, ответственных за фиксацию CO_2 , указывает на гетеротрофный тип питания. Ген, кодирующий нитроалканоксидазу (*nmo*), широко представлен среди собранных геномов (в 117 геномах из 330) (рис. 8). Ген *pod* обнаружен только у 16 представителей класса *Gammaproteobacteria*, а именно у представителей семейства *Burkholderiales* и четырех представителей рода *Pseudomonas*. Ген, кодирующий диоксигеназу оксида азота (*hmp*), обнаружен в 26 геномах, относящихся к различным классам (*Gammaproteobacteria*, *Alphaproteobacteria*, *Verrucomicrobia* и другим).



Ген *amoCAB* кодирует аммоний монооксигеназу, *hao* и *suxA* – гидроксиламиноксидоредуктазу, *cytL* – цитохром P460, *nxr* – нитритоксидоредуктазу, *nmo* – нитронат монооксигеназу, *pod* – диоксигеназу пировиноградного оксима, *hcp* – гидроксиламинонредуктазу, *hmp* – диоксигеназу оксида азота

Рисунок 8 – Гены нитрификации в собранных геномах из лугово-черноземных почв и хемоземов: (а) гены автотрофной нитрификации, (b) гены гетеротрофной нитрификации

Среди генов, ответственных за устойчивость к ТМ, в геномах особенно широко распространены *copV*, *cusAB*, *czcABC*, *zntA*, *zurT*, ответственные за кодирование белка системы оттока ТМ (рис. 9). В геномах Nitrospirota из хемоземов выявлено по 18–27 генов устойчивости к ТМ, тогда как в двух геномах Nitrospirphaegia из лугово-черноземных почв – всего по 2 гена. Наибольшее число копий генов (*cusA*, *silA*) обнаружено у аммоний-окисляющих бактерий филума Binatota из хемоземов (по 10–34 гена), тогда как в геноме из лугово-черноземных почв – всего по 2 гена. Большое разнообразие генов металлорезистентности (MRG) обнаружено также в геномах представителей Pseudomonadota, обладающих генами *pod*.



V – названия геномов из лугово-черноземной почвы, S – названия геномов из хемоземов, n – количество копии генов. MRG: *mer* – редуктаза ртути, *pcp*, *cop* – белок устойчивости к Cu, *cus* – белок системы оттока Cu/Ag, *mts* – белок, связывающий субстрат транспортной системы Fe/Zn/Mn/Cu, *czc* – белок системы оттока ТМ, *zip* – транспортер Zn и Cd, *zur* – транспортер Zn

Рисунок 9 – Распространенность генов устойчивости к ТМ в собранных геномах в лугово-черноземных почвах и хемоземах бывшего шламонакопителя

Таким образом, в загрязненных почвах формируется нитрифицирующее сообщество, в котором среди автотрофных нитрификаторов доминируют АОВ, а именно комаммокс бактерии. Представители комаммокс Nitrospirota особенно распространены в загрязненных почвах, поскольку имеют гены устойчивости к ТМ: *cop*, *cus*, *czc*. Движущими факторами такой трансформации сообщества является экстремальное загрязнение почвы Zn.

В модельном эксперименте по изучению влияния Zn на состояние сообщества нитрифицирующих микроорганизмов в лугово-черноземной почве обнаружено, что активность окисления аммония значительно снизилась. Загрязнение Zn в концентрации 2200 мг/кг снизило активность окисления аммония и нитрита в 14,0 и 9,40 раз соответственно (рис. 10), в то же время, при длительном загрязнении более чем 100 000 мг/кг Zn активность нитрификации снизилась всего лишь в 2 раза.

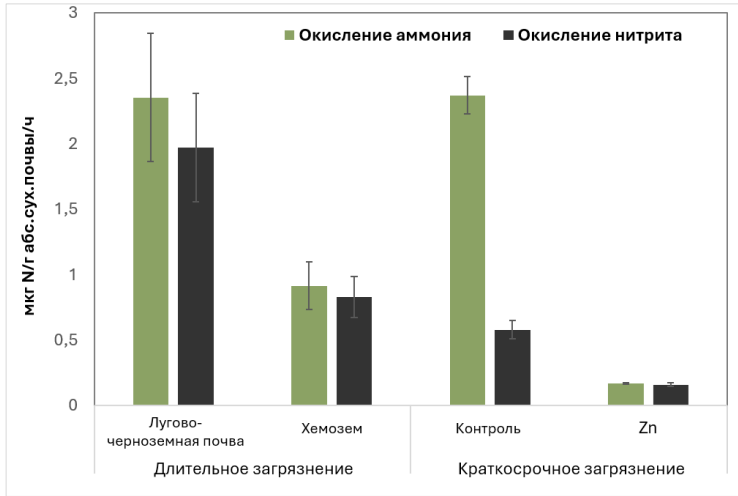


Рисунок 10 – Активность нитрификации при длительном загрязнении (81-117 г/кг Zn) и краткосрочном загрязнении ZnO (2282 мг/кг Zn) в модельном эксперименте

Данный факт объясняется тем, что при краткосрочном загрязнении ТМ у нитрификаторов не успевают сформироваться адаптационные механизмы, что приводит к резкому снижению активности нитрификации.

3.4 Характеристика накопительной культуры нитрификаторов и ПАУ-деградирующего денитрификатора

Для получения накопительной культуры нитрификаторов с целью ремедиации почв, загрязненных ПАУ, выбран техногенно нарушенный чернозем обыкновенный углеотвала шахты Майская М7, характеризующийся высокой активностью нитрификации. На рисунке 11 показано, что почвенное сообщество нитрификаторов разнообразно и представлено в основном родами *Nitrososphaera*, *Nitrosomonas* (окислители аммония) и *Nitrospira*, *Nitrobacter* и *Nitrospirillum* (окислители нитрита). В накопительной культуре доминируют рода *Nitrosomonas* и *Nitrospira*.

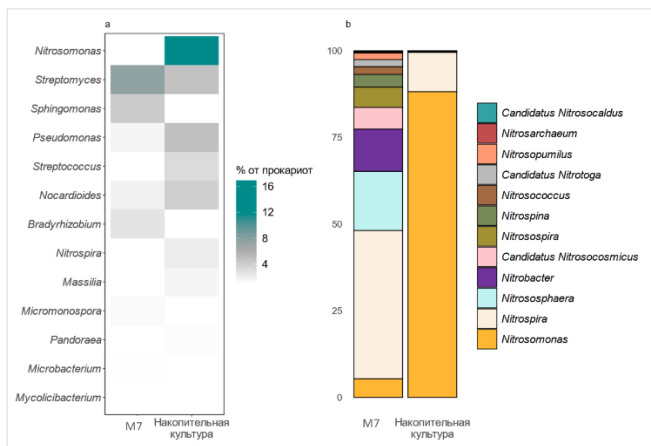


Рисунок 11 – Накопление нитрифицирующих микроорганизмов, выделенных из техногенно нарушенного чернозема обыкновенного M7: *a* – доминирующие рода прокариот; *b* – таксономический состав нитрификаторов

Процент содержания представителей доминирующих родов *Nitrosomonas* и *Nitrospira* в техногенно нарушенном черноземе обыкновенном от общего количества прочтений составил 0,01 и 0,09%. Данные рода увеличили свою численность при накоплении в 1600 и в 30 раз, соответственно. В процессе хранения и культивирования накопительной культуры в течение года произошло изменение сообщества в сторону увеличения доли нитрифицирующих бактерий до 38%. Доминирующими представителями являются АОВ – *Nitrosomonas communis*, NOB – *Nitrolancea*. Полнота сборки геномов составляет более 90%, а уровень контаминации менее 10%.

У *Nitrosomonas communis* найдены две копии генов, кодирующих субъединицы монооксигеназы аммония (*amoCAB*), а также гены субъединиц редуктазы окиси азота (*norBC*). У представителя рода *Nitrolancea* обнаружены гены окисления нитрита в нитрат – нитрит оксидоредуктаза (*nirA*), а также гены нитратредуктаз (*napA*, *narVNHJ*), нитритредуктаз (*nirK*, *nirA*, *nirB*, *nirD*), редуктазы окиси азота (*norC*).

Активность окисления аммония нитрификаторами накопительной культуры составляла – $30,3 \pm 2,8$ мкг N/ч/г, окисления нитрита – $14,7 \pm 0,0$ мкг N/ч/г. Наиболее токсичным углеводородом оказались низкомолекулярные соединения (нафталин и бифенил), поскольку они являются более биодоступными, а нафталин может необратимо ингибировать аммоний монооксигеназу, в то время как наименее токсичным был пирен (рис. 12). Пирен негативно повлиял на активность нитрификации в концентрации 10 000 нг/мг и выше. Среди ТМ наиболее токсичными элементами оказались Cd и Ni. При добавлении 10 мг/кг активность снизилась на 81% относительно контрольного варианта. Менее токсичными ТМ оказались Pb и Zn. Значимое

снижение активности нитрификации наблюдалось только при добавлении 1 и 10 мг/кг данных металлов.

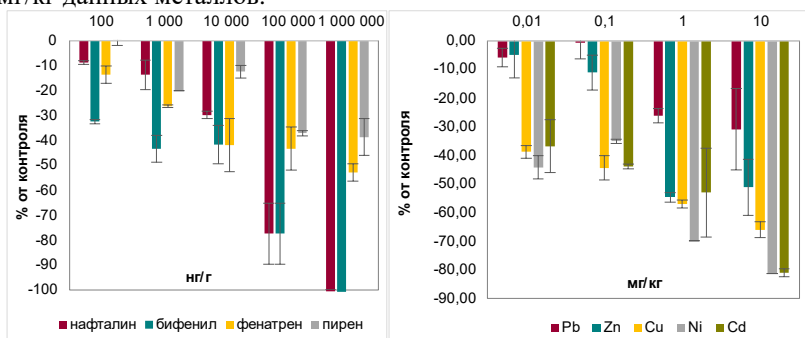


Рисунок 12 – Влияние ПАУ и ТМ на активность нитрификации накопительной культуры

Среди ПАУ-деструкторов был выбран один штамм, идентифицированный как *Enterobacter ludwigii*. Полнота сборки генома составляла 99,97%, а контаминация – 0,14%. Наличие способности к денитрификации у штамма *Enterobacter* также подтверждается наличием генов, ответственных за диссимиляционную и ассимиляционную нитратредукцию (*nar* и *nir*). Обнаружены гены и гомологи генов, ответственных за деградацию гидроксифенилацетата, фенантрена, пирена и фталата (*pht4*, *pht3*, *phtAaBC*, *phdE*, *phdK*, *nahB*).

В монокультуре *Enterobacter* утилизировал около 7,5% ПАУ, однако дополнительное внесение накопительной культуры нитрификаторов простимулировало деградацию до 30% (рис. 13). Стоит отметить, что добавление нитрата также стимулирует деградацию ПАУ штаммами *Enterobacter* в аналогичной степени.

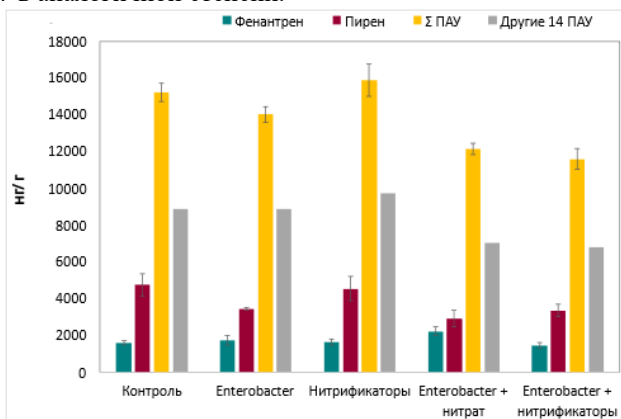


Рисунок 13 – Остаточное содержание фенантрена и пирена после инкубации штаммов и их консорциума в загрязненной почве углеотвала

ВЫВОДЫ

1. В почвах углеотвалов шахты Майской и Аютинской города Шахты Ростовской области обнаружено умеренно-опасное и чрезвычайно опасное загрязнение Ni, Pb, Zn. Повышенное содержание $C_{орг}^{700}$ и подвижных форм ТМ, засоление и подкисление почв отрицательно влияют на активность процессов нитрификации и денитрификации. Более чувствительным биологическим показателем является активность нитрификации, которая в эмбриоземах и техноземах углеотвалов снизилась значительно по сравнению с исходной почвой, принятой за фон – черноземом обыкновенным.

2. В техноземах углеотвалов, прошедших механическую рекультивацию, несмотря на снижение уровня засоления и загрязнения ТМ до допустимого уровня, обнаружено снижение численности нитрифицирующих микроорганизмов, активности нитрификации и уреазы ввиду увеличения содержания глинистой фракции и снижения содержания $C_{орг}$ в почве.

3. Хемоземы бывшего шламонакопителя характеризуются высоким длительным загрязнением ТМ, особенно Zn (в среднем 100 000 мг/кг), что привело к снижению активности нитрификации в 2 раза относительно лугово-черноземных почв. Загрязнение лугово-черноземной почвы Zn в условиях модельного эксперимента в концентрации 2200 мг/кг снизило активность нитрификации в 10 раз.

4. В хемоземах бывшего шламонакопителя доминируют комаммокс бактерии *Nitrospirota*, окисляющие и аммоний, и нитрит, в геномах которых были обнаружены гены устойчивости к ТМ: *cop*, *cus*, *czc*. Хемоземы бывшего шламонакопителя характеризовались повышенной активностью образования нитрита из оксима пировиноградной кислоты представителями филума *Pseudomonadota*. В их геномах обнаружено более 20 генов резистентности к тяжелым металлам. Активность нитроалканоксидазы в лугово-черноземных почвах была выше в 3 раза.

5. В геноме штамма *Enterobacter ludwigii*, выделенном из техногенно нарушенных почв углеотвалов, обнаружены гены, ответственные за денитрификацию (*nar* и *nir*) и гены, ответственные за деградацию гидроксифенилацетата, гомологи генов, ответственных за деградацию фенантрена, пирена и фталата (*pht4*, *pht3*, *phtAaBC*, *phdE*, *phdK*, *nahB*).

6. Совместное внесение *Enterobacter ludwigii* в концентрации 3×10^8 клеток микроорганизмов/г и накопительной культуры нитрификаторов с активностью окисления аммония – $2,02 \pm 0,19$ мкг N/ч/г почвы, а также *Enterobacter ludwigii* и нитрата калия значительно ускорило разложение ПАУ до 30% за короткий период (1 месяц). Накопительная культура нитрифицирующих микроорганизмов состояла на 38% из аммоний-окисляющей бактерии *Nitrosomonas communis* и нитрит-окисляющей бактерии *Nitrolancea*. Нитрификаторы продемонстрировали устойчивость к пирену, Zn и Pb.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ
Статьи, опубликованные в изданиях, входящих в базы данных
международных индексов научного цитирования Scopus и/или Web of Science

1. Heterotrophic nitrification in soils: Approaches and mechanisms / **E. P. Pulikova**, A. V. Gorovtsov, Ya. Kuzyakov [et al.] // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2025. – Vol. 202. – P. 109706. – DOI 10.1016/j.soilbio.2024.109706. K1
2. Effects of bulk forms and nanoparticles of zinc and copper oxides on the abundance, nitrogen cycling and enzymatic activities of microbial communities, morphometric parameters and antioxidant status of *Hordeum vulgare* L. / **E. P. Pulikova**, F. D. Ivanov, I. A. Alliluev [et al.] // *Environmental Geochemistry and Health*. – 2024. – Vol. 46, No. 12. – P. 494. – DOI 10.1007/s10653-024-02258-y. K1
3. Soil physicochemical and microbial properties affect nitrogen cycling in technogenically transformed coal dump soils / **E. P. Pulikova**, K. A. Demin, F. D. Ivanov [et al.] // *Applied Soil Ecology*. – 2024. – Vol. 202. – P. 105562. – DOI 10.1016/j.apsoil.2024.105562. K1
4. New Approaches for Assessing the Transformation of Soil Microbial Communities in the Soil Surface Horizons of Rostov-on-Don / **E. P. Pulikova**, F. D. Ivanov, E. S. Lacynnik [et al.] // *Eurasian Soil Science*. – 2025. – Vol. 58, No. 5. – P. 1-10. – DOI 10.1134/S106422932460386X. K1
5. Microbiological status of natural and anthropogenic soils of the Taganrog Bay coast at different levels of combined pollution with heavy metals and PAHs / **E. P. Pulikova**, F. Ivanov, A. V. Gorovtsov [et al.] // *Environmental Geochemistry and Health*. – 2023. – Vol. 45, No. 12. – P. 9373-9390. – DOI 10.1007/s10653-022-01405-7. K1
6. Pulikova, E. P. Nitrogen cycling processes in urban soils: stocks, fluxes, and microbial transformations / **E. P. Pulikova**, A. V. Gorovtsov // *Soils in Urban Ecosystem* / A. Rakshit, S. Ghosh, V. Vasenev, H. Pathak, V. D. Rajput (eds.). – Singapore: Springer Nature, 2022. – P. 101-135. – DOI 10.1007/978-981-16-8914-7_6. – URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-16-8914-7_6 (data access 10.07.2025)

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ТМ – тяжелые металлы
 ПАУ – полициклические ароматические углеводороды
 АОА – аммоний-окисляющие археи
 АОВ – аммоний-окисляющие бактерии
 НОВ – нитрит-окисляющие бактерии
 АМО – аммоний монооксигеназа
 РОД – диоксигеназа пировиноградного оксима
 НАО – нитроалканоксидаза
 NXR – нитритоксидоредуктаза