

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

На правах рукописи



ИВАНОВ ФЕДОР ДМИТРИЕВИЧ

**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНДУЦИРОВАННОЙ
БИОРЕМЕДИАЦИИ ПОЧВ УГЛЕОТВАЛОВ ВОСТОЧНОГО
ДОНБАССА**

1.5.19. Почвоведение (биологические науки)

1.5.15. Экология (биологические науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

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

**Научные
руководители:**

Минкина Татьяна Михайловна,
доктор биологических наук, профессор, ФГАОУ ВО
«Южный федеральный университет», Академия биологии
и медицины им. Д. И. Ивановского,
кафедра почвоведения и оценки земельных ресурсов,
заведующий;

Горовцов Андрей Владимирович,
кандидат биологических наук, ФГАОУ ВО «Южный
федеральный университет», Академия биологии и
медицины им. Д. И. Ивановского, кафедра биохимии и
микробиологии, доцент.

**Официальные
оппоненты:**

Тихомирова Елена Ивановна,
доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО
«Саратовский государственный технический университет
имени Гагарина Ю.А.», Институт урбанистики,
архитектуры и строительства, кафедра «Экология и
техносферная безопасность», заведующий;

Артамонова Валентина Сергеевна,
доктор биологических наук, доцент, ФГБУН «Институт
почвоведения и агрохимии СО РАН», лаборатория
рекультивации почв, ведущий научный сотрудник

Защита диссертации состоится «**29**» **декабря 2025** г. в **15:00** на заседании диссертационного совета ЮФУ801.01.13 по биологическим наукам на базе Академии биологии и медицины 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/1347026/>

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.



Бурачевская Марина Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Топливно-энергетическая отрасль, такая как добыча угля, является одной из важнейших видов экономической деятельности для целых регионов, однако нельзя недооценивать ее отрицательное масштабное воздействие на окружающую среду. Одним из характерных последствий является отсыпка породных углеотвалов (терриконов). Тело террикона подвержено ветровой и водной эрозии, кислотному гидролизу, что способствует миграции поллютантов, таких как тяжелые металлы и металлоиды (ТМ) в геохимически подчиненные ландшафты. Данные факторы угнетают развитие растений и естественное зарастание терриконов, что могло бы препятствовать эрозии склона (Rahmonov и др., 2022).

Для консервации и восстановления почв техногенных территорий, подверженных полиметаллическому загрязнению, активно применяются различные методы рекультивации (Тихомирова и др., 2024; Косапан, 2023), в том числе метод индуцированной фиторемедиации. Индуцированная фиторемедиация является комплексом методов, направленных на активацию поглощения ТМ из почвы корнями растений и их дальнейшую транслокацию в надземную часть растений - фиторемедиаторов ТМ. Для этого могут быть использованы хелатирующие агенты, которые переводят ТМ в биодоступные формы. Кроме того, существует подход биоремедиации, основанный на метаболическом потенциале различных живых организмов. Данный подход особенно эффективен при загрязнении техногенного характера (Домрачева и др., 2022). При индуцированной биоремедиации могут быть использованы фитостимулирующие бактерии и арбускулярные микоризные грибы, которые способствуют не только транслокации ТМ, но и росту и развитию растений-фиторемедиаторов в загрязненной почве (Guo и др., 2021). В связи с чем комплексная оценка эффективности индуцированной биоремедиации также должна включать показатели осуществления экосистемных функций почв (Артамонова, Бортникова, 2022).

Цель исследования: изучить и дать комплексную оценку эффективности индуцированной биоремедиации техногенно загрязненных почв углеотвалов Восточного Донбасса.

Основные задачи исследования:

1. На основе метаанализа дать оценку влияния микроорганизмов на фиторемедиационный потенциал растений при загрязнении почв ТМ;
2. Изучить структуру микробного сообщества техногенно загрязненных почв зоны влияния углеотвалов Восточного Донбасса;
3. Изучить влияние различных хелатирующих агентов на интенсивность накопления ТМ растениями и изменение численности почвенной микробиоты хемозема;
4. Оценить совместное влияние хелатирующего агента и инокуляции растений микоризными грибами на эффективность индуцированной биоремедиации хемозема.

Научная новизна. Впервые проведена оценка воздействия Na-ЭДТА, лимонной и щавелевой кислот на состав микробного сообщества и эффективность фиторемедиации Zn, Cd, Ni, Pb, Mn, Cu в почвах углеотвалов Восточного Донбасса. Оценено воздействие индуцированной биоремедиации на свойства почвы, растений и микробных сообществ. Показан синергический эффект микоризной инокуляции грибами рода *Glomus* в сочетании с лимонной кислотой для повышения устойчивости и увеличения фиторемедиационного потенциала. На основании проведенных исследований разработан метод индуцированной биоремедиации техногенно нарушенных почв в зоне влияния породных углеотвалов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Экологическая структура микробных сообществ в техногенно нарушенных почвах углеотвалов определяется уровнем накопления подвижных форм Zn, Ni, Mn, Cr, Cu, Cd, Pb. С ростом увеличения подвижности тяжелых металлов в почве в составе микробного сообщества доминируют актиномицеты и бактерии с высокой скоростью роста.
2. Внесение хелатирующих агентов таких как лимонная кислота увеличивает фиторемедиационный потенциал *Elytrigia repens* и *Medicago sativa* в 2 и более раз. Наблюдается одновременное увеличение численности аммонифицирующих и снижение численности прототрофных бактерий. Численность плесневых, дрожжевых грибов и целлюлозолитических бактерий при внесении в хемозем хелатирующих агентов не изменяется.
3. Совместное использование лимонной кислоты и припосевной микоризации *Glomus sp.* увеличивает суммарный вынос тяжелых металлов *M. sativa* и *E. repens* более чем в 2 раза.

Теоретическое и практическое значение. Изучены микробные сообщества техногенно нарушенных почв углеотвалов в условиях естественного полиметаллического загрязнения. Описано влияние хелатирующих агентов и микоризы на мобилизацию ТМ и трансформацию почвенных микробных сообществ. Рассмотрены изменения свойств почвы, растений и микробных сообществ, происходящие в ходе индуцированной биоремедиации.

Разработан и апробирован метод индуцированной фиторемедиации с использованием хелатирующего агента, растительного сообщества и микоризного гриба *Glomus sp.*

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Тема диссертационной работы соответствует паспорту специальности 1.5.19. Почвоведение пунктам 6, 7, а также паспорту специальности 1.5.15. Экология пункту 1.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов обусловлена соблюдением используемой общепринятой методологией выполняемых работ в почвоведении, экологии и микробиологии, количеством полевых и лабораторных повторностей. Использовались гостированные методики, применена статистическая обработка экспериментальных данных. Основные положения

диссертационной работы докладывались и обсуждались на международных и российских конференциях, международных научных школах, форумах и съездах: XIX Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем» в 2021; Международном форуме «Степная Евразия – устойчивое развитие» в 2022; Международной научной конференции «Эволюция почв и развитие научных представлений в почвоведении» в 2022; Международном молодёжном научном форуме «Ломоносов-2022» в 2022; XIII Международной биогеохимической школе-конференции «Эволюция биосферы, Биогеохимические циклы и биогеохимические технологии: связь фундаментальных и прикладных исследований» в 2023; IX Всероссийском съезде Общества почвоведов им. В.В. Докучаева «Почвы – опора России» в 2024.

Личный вклад автора. Все микробиологические исследования выполнены лично автором в период с 2021 по 2025 год. Выполнение лабораторных анализов осуществлялось на кафедре почвоведения и оценки земельных ресурсов, а также в лаборатории «Биоинженерия ризосферы» Академии биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского Южного федерального университета. Формулирование цели и задач исследования, анализ и обобщение полученных результатов выполнены автором при направляющем участии научных руководителей.

Публикации. По теме диссертационного исследования опубликовано 4 статьи в журналах первого и второго квартиля, входящих в международные библиографические и реферативные базы данных Scopus и Web of Science.

Структура и объём работы. Диссертация состоит из введения, 6 глав, выводов и списка литературы. Работа изложена на 147 страницах, содержит 22 таблицы, 26 рисунков. Список литературы включает 253 источников, из них 205 на иностранных языках.

Финансовая поддержка работы. Работа была выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2023-587, с использованием оборудования ЦКП «Биоинженерия почв» (соглашение № 075-15-2025-667), в рамках программы развития межрегионального научно-образовательного центра Юга России (FENW-2024-0001) и Программы стратегического академического лидерства Южного федерального университета («Приоритет 2030»).

Благодарности. Автор выражает признательность сотрудникам кафедры почвоведения и оценки земельных ресурсов, лаборатории микробиологии кафедры биохимии и микробиологии Академии биологии и биотехнологии Южного федерального университета, задействованных в выполнение данной работы, научным руководителям д.б.н., профессору Т.М. Минкиной, и к.б.н., доценту А.В. Горовцову за их неоценимый вклад в написание данной диссертации.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Обзор включает разделы, в которых рассмотрено влияние ТМ на растения и микроорганизмы, загрязнение техногенно нарушенных почв, в том числе почв породных углеотвалов, а также их рекультивация. Описаны механизмы защиты растений от ТМ, различные подходы к фиторемедиации загрязненных почв, в том числе терриконов. Рассмотрены растительно-микробные ассоциации и их использование в фиторемедиации. Уделено внимание влиянию микроорганизмов на поглощение ТМ в процессе фиторемедиации и проблемам оценки их эффективности.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Восточный Донбасс является экологически неблагоприятным регионом РФ, исторически подвергающимся техногенному загрязнению со стороны металлургической и угледобывающей промышленности. На территории Ростовской области находится не менее 600 терриконов объемом от 200 до 600 тыс. м³, а общая площадь техногенно нарушенных почв, связанных с угледобычей составляет 7000 га (Замулина и др., 2024). Для изучения состава микробного сообщества техногенно нарушенных почв углеотвалов Восточного Донбасса отбирался верхний 0–20 см слой почв зоны влияния породных углеотвалов шахт «Аютинская» и «Майская» (Ростовская область): чернозема миграционно-сегрегационный техногенно-нарушенный (Haplic Chernozems Technic по WRB, 2022), пелозема и хемозема (Spolic Technosols Toxic по WRB, 2022). В качестве фоновой незагрязненной почвы исследован чернозем миграционно-сегрегационный (Haplic Chernozem по WRB, 2022) ООПТ «Персиановская заповедная степь», расположенный в 22 и 33 км от углеотвалов шахт «Майская» и «Аютинская» соответственно и вдали от прочих возможных источников загрязнения. Фоновые почв и загрязненные почвы расположены в одной Южно-Европейской теплой провинции и относятся к одной фации теплых кратковременно промерзающих (Безуглова, Хырхырова, 2008). Свойства изучаемых почв приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Физические, химические и физико-химические характеристики фонового чернозема и техногенно нарушенных почв,

n – количество заложённых площадок мониторинга на исследуемых участках

Свойства	pH	CaCO ₃ , %	Сорг, %	ЕКО, ммоль/100 г	Сухой остаток, %	Физ. глина, %	Ил, %
Чернозем миграционно-сегрегационный ООПТ, 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

Чернозем миграционно-сегрегационный техногенно-нарушенный углеотвала шахты Аютинская, n = 4							
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
Хемозем углеотвала шахты Аютинская, n = 1							
Среднее	7,3	0	3,5	67,4	0,69	16,8	34,4
Диапазон	7,27-2,33	0	3,4-3,6	62,6-72,2	0,64-0,74	15,7-17,9	31,1-37,7
Пелозем 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
Чернозем миграционно-сегрегационный техногенно-нарушенный 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

Метаанализ влияния внесения микроорганизмов на накопление ТМ при фиторемедиации проводили с использованием базы данных Scopus, для расчета размера эффекта использовалось программное обеспечение Comprehensive Meta Analysis 3.0. Для анализа данных была реализована модель смешанного эффекта.

Отбор почвенных образцов выполнялся в весенне-осенний период по стандартным методикам, согласно ГОСТ 28168-89 и ГОСТ 17.4.4.02-2017. Определение ГМС почвы проводилось методом пипетирования по А.А. Качинскому, с пирофосфатной подготовкой (Морозов, Безуглова, 2011). Органический углерод определялся согласно ISO 14235. Измерение рН и сухого остатка было проведено с использованием потенциометрического метода согласно ГОСТ 26423–85. Определение содержания карбонатов проводили газовольметрическим методом, емкость катионного обмена (ЕКО), подвижные катионы кальция и магния определяли по ISO 23470-2018.

Валовой элементный состав исследуемых почв определен с применением рентгеновского спектрометра «Спектроскан МАКС-GV» (Спектрон, Россия) в соответствии с аттестованной методикой (ПНД Ф 16.1.42-04, 2010). Подвижная форма ТМ экстрагирована 1 н ацетатно-аммонийным буфером (ААБ) с рН 4,8, соотношение почва : раствор 1:10, время экстракции 18 ч. Концентрации металлов в вытяжках из почв определены с использованием атомно-абсорбционного спектрометра «Квант-2». Содержание ТМ в растительных образцах определялось после предварительной минерализации образцов при температуре 450-500°C и растворения золы в HCl (20%) (CDH, Индия) (Charlygin и др., 2020).

Для оценки барьерной функции корней и аккумулирующей способности исследуемых растений рассчитывали акропетальный коэффициент (АК) и коэффициент накопления (КН) (Charlygin и др., 2019).

Для расчетов КН использованы результаты определения подвижных соединений ТМ в почве по методу Т.М. Минкиной (Minkina и др., 2008). Для оценки загрязнения почвы ТМ рассчитывали суммарный показатель загрязнения (Z_c).

Численность аммонифицирующих, целлюлозолитических, прототрофных бактерий и актиномицетов определялась методом посева на мясопептонный агар (МПА), среду Гетчинсона с микрокристаллической целлюлозой и крахмало-аммиачный агар (КАА), соответственно. Для определения численности плесневых грибов и дрожжей использовалась среда Чапека. Коэффициент минерализации ($K_{мин}$) рассчитывали как отношение численности бактерий, использующих неорганические формы азота (прототрофы) к численности бактерий-аммонификаторов (Мишустин, 1956). С целью оценки доминирующей экологической стратегии (R или K) определялась доля быстрорастущих микроорганизмов от общего их числа. Для этого был проведен дополнительный учёт колоний, выросших на мясопептонном агаре в первые сутки инкубации.

ГЛАВА 3. МЕТОДОЛОГИЯ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

3.1 Проведение метаанализа влияния микроорганизмов на накопление тяжелых металлов растениями

Наблюдается тенденция к росту числа публикаций по тематике микробно-индуцированной фиторемедиации почв. Большинство исследований было проведено в Китае (38%), Индии (8%) и Пакистане (7,8%). Меньшее количество было проведено в Португалии, Италии и Иране, с общим вкладом 12,8%. Исследование включало 16 химических элементов, относящихся к ТМ и металлоидам. Большинство исследований было посвящено фиторемедиации почв, загрязненных Cd, Pb, Zn и Cu (74,8%). Исследования Hg, опасного элемента, были относительно редки (0,9%).

Показано, что средний эффект влияния микроорганизмов на накопление ТМ в корнях оценивается в $2,28 \pm 0,18$, тогда как эффект для побегов составляет $0,57 \pm 0,21$. Использование эндомикоризных грибов (AMF) снижает накопление ТМ в надземных частях растений, с расчетным эффектом $-2,23 \pm 0,35$, однако увеличивает их накопление в подземных частях ($2,32 \pm 0,34$). Напротив, использование бактерий или эктомикоризных грибов (non-AMF) увеличивает накопление ТМ во всех частях растений.

Влияние отдельных родов микроорганизмов на процесс фиторемедиации в нашем исследовании существенно различается (рисунок 1). В целом, эктомикоризные грибы имеют тенденцию к увеличению накопления ТМ в тканях растений. Использование бактерий сильнее стимулирует поглощение ТМ растениями. Было обнаружено, что *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Streptomyces* и *Micrococcus* оказывают наибольшее влияние на накопление ТМ в корнях растений, со средним эффектом $7,09 \pm 1,40$. Для побегов *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Kocuria* и *Micrococcus* также оказали высокое влияние, со средним эффектом $6,66 \pm 2,18$. Использование *Burkholderia* и

Chryseobacterium ингибирует перенос ТМ в ткани растений. Использование AMF способствует фитостабилизации, усиливая накопление ТМ в корнях и уменьшая накопление в побегах. Наиболее характерно это для *Piriformospora* и *Gigaspora* (влияние на накопление в корнях в среднем составляет $8,02 \pm 2,92$; в надземной части $-5,10 \pm 1,55$) и *Scleroderma*, которая влияет на накопление в корнях на $4,25 \pm 2,08$ и в побегах на $-7,20 \pm 3,32$. Влияние часто используемого *Glomus* обнаружено только для накопления ТМ в корнях (оценено в $3,02 \pm 0,62$). AMF в основном усиливают фитостабилизацию за счет увеличения биомассы корней и доступности фосфора в почве, снижения окислительного стресса за счет повышения активности антиоксидантных ферментов, трансформации и восстановления ионов ТМ с последующим осаждением на поверхности и в тканях микоризированных корней, связывания ТМ белком гломалином и секвестрации в мицелии. ТМ могут транспортироваться через систему поглощения фосфата и железа.

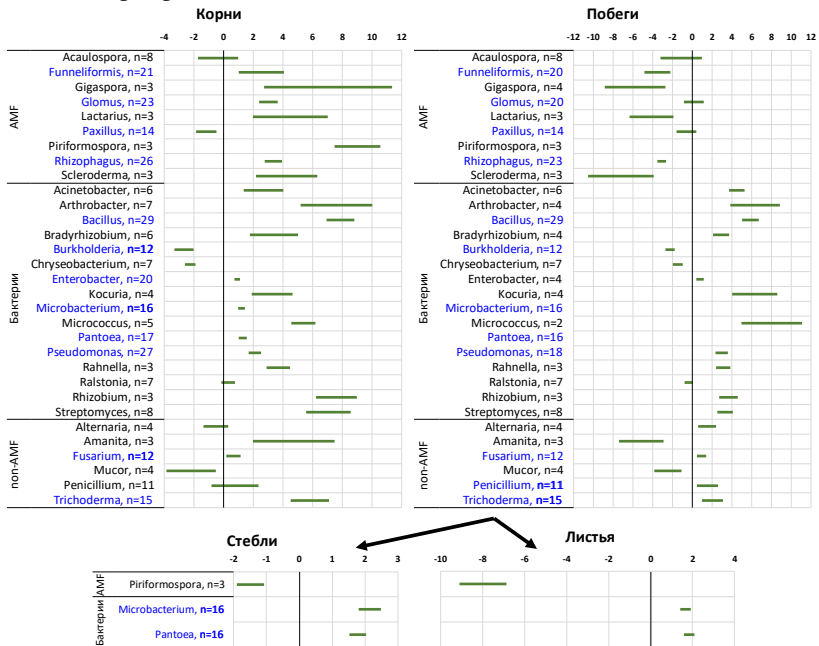


Рисунок 1 - Влияние различных родов микроорганизмов на поглощение ТМ растениями, n – количество наблюдений

Использование микроорганизмов способствует переходу ТМ в ткани растений, особенно в ткани корней, но реакция отдельных родов растений на инокуляцию микроорганизмами различается (рисунок 2). Эффект выше для родов *Alnus* ($14,78 \pm 2,36$) и *Crotalaria* ($7,89 \pm 4,47$). Для *Zea*, *Pinus* и *Acacia* увеличение фитостабилизирующей способности существенно. Растения рода

Acacia в ответ на стимуляцию значительно снижают переход ТМ в побеги ($-31,81 \pm 8,55$) и увеличивают переход в ткани корней ($5,14 \pm 2,42$).

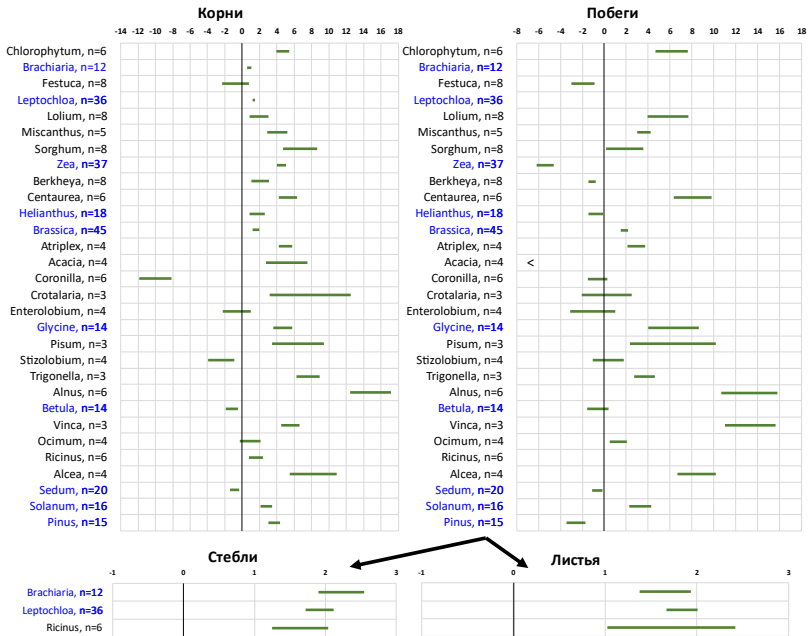


Рисунок 2 - Влияние рода растений на восприимчивость к микробно-индуцированной фиторемедиации, n – количество наблюдений

Выявлено, что применение AMF может в некоторых случаях снизить фитоэкстракционный потенциал растений. Инокуляция *Berkheya* и *Pinus* увеличила содержание ТМ в корнях и немного снизила содержание в побегах. *Berkheya* является гипераккумулятором и ранее была предложена для фитодобычи. Сосновые насаждения также используются для фитоэкстракции ТМ. Однако снижение концентрации ТМ в стеблях может быть связано не с физиологией растений, а с биомассой растений после применения AMF. Хотя фиторемедиационный потенциал растений увеличивается за счет добавления бактерий, это особенно перспективно для растений, которые уже известны как эффективные фиторемедианты: *Chlorophytum*, *Miscanthus*, *Vinca*, *Ricinus*. Важно отметить, что микроорганизмы могут влиять не только стимулировать фитостабилизацию и фитоэкстракцию ТМ при рекультивации загрязненных почв, но и при росте пищевых, кормовых и лекарственных растений. *Zea mays* и *Helianthus annuus*, инокулированные микроорганизмами, снижают накопление ТМ в побегах.

Подвижность ТМ в почвах сильно зависит от ее физико-химических свойств (рисунок 3). Влияние органического углерода на эффективность индуцированной фиторемедиации было в основном положительным (средний

эффект $2,33 \pm 0,17$ для корней и $0,90 \pm 0,21$ для побегов). Влияние кислотности почвы на повышение перехода ТМ в ткани растений положительно для корней (среднее $2,11 \pm 0,17$) и менее выражено для побегов (среднее $0,68 \pm 0,21$). В целом, индуцированная фитоэкстракция происходит как в кислых, так и в щелочных почвах. Наибольшее влияние было обнаружено для кислых почв ($3,93 \pm 0,75$).



Рисунок 3 - Влияние уровня Сорг в почве (высокий, низкий, средний) и pH на эффективность микробно-индуцированной фиторемедиации, n – количество наблюдений

Эффективность индуцированной фиторемедиации различается для разных ТМ. В корнях растений накопление увеличивается во всех случаях, что наиболее выражено для Ni ($3,41 \pm 0,77$), а также для As, Pb и Mn ($2,83 \pm 0,89$, $2,71 \pm 0,46$ и $2,66 \pm 0,75$ соответственно). Влияние микроорганизмов на транспорт разных ТМ в побеги существенно различается, для Cd, Ni и Pb эффект положительный, для Zn, Cr и Mn наблюдается снижение накопления (эффект оценивается от $-0,61$ до $-7,16$). При внесении микроорганизмов в почву более вероятен процесс фитостабилизации. Фитоэкстракция наблюдается в отношении Cd, Ni и Pb (рисунок 4).

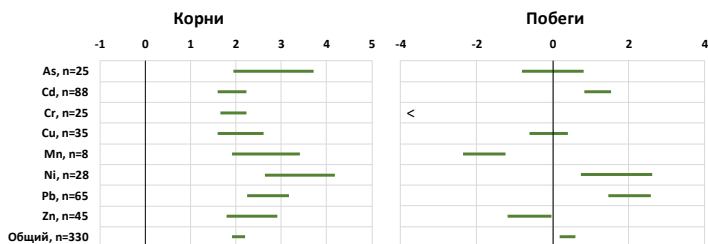


Рисунок 4 - Восприимчивость различных ТМ(и металлоидов) к воздействию микробно-индуцированной фиторемедиации для отдельных элементов, n – количество наблюдений

Таким образом, в ходе метаанализа было определено, что использование АМФ рода *Glomus* способствует стимуляции фитостабилизации, что обуславливает его дальнейший выбор для модельного эксперимента. Выбор растений рода *Elytrigia* и *Medicago* обусловлен их представленностью в местной флоре и отсутствием валидных исследований их потенциала при индуцированной фиторемедиации.

3.2 Закладка модельных экспериментов

Для определения наиболее эффективных хелатирующих агентов, их концентраций и совместного влияния хелатирующих агентов и микоризации на эффективность биоремедиации ТМ, были заложены модельные эксперименты. В первом модельном опыте изучали наиболее эффективные хелатирующие агенты и их оптимальные дозы. В качестве почвы был использован хемозем А5, отобранный у подножия угольного отвала шахты «Аютинская» (координаты GPS: 47°48'08.3" с.ш., 40°08'23.7" в.д.). 2 кг почвы помещали в горшки и увлажняли. В качестве культур-фиторемедиантов использовали пырей ползучий (*E. repens*) ГОСТ Р 52325-2005 и люцерну посевную (*M. sativa*) сорта Вега 87. Для этого в вегетационные сосуды были посеяны 20 семян *E. repens* и *M. sativa* и после прорастания прорезены до 15 растений. Растения выращивали в течение 28 дней в контролируемой среде с 14/10-часовым циклом свет-темнота, стабильной температурой (25±3°C) и влажностью воздуха (40–50%), влажность почвы соответствовала 60 % от полной полевой влагоемкости. После 2 недель вегетации (Iram et al., 2013) в хемозем отдельно добавляли 1, 2, 5 или 10 ммоль/кг Na-ЭДТА (HiMedia, США), лимонной (ТТСА Со., Китай) и шавелевой (HiMedia, США) кислот для активации накопления ТМ растениями.

Во втором модельном опыте изучалась эффективность микоризообразующих микроорганизмов на фоне внесения хелатирующего агента в загрязненную почву. Для повышения фиторемедиационного потенциала растений в загрязненную и контрольную почву вносили добавки согласно схеме: 1) хелатирующий агент 2) микоризообразующие грибы 3) оба ремедианта совместно. В качестве контроля отбирался 0-20 см слой чернозема миграционно-сегрегационного, в качестве загрязненной почвы – 0-20 см слой хемозема А5. Влажность почвы в сосудах поддерживалась на уровне 60% от полной полевой влагоемкости. В качестве хелатирующего агента использовали лимонную кислоту в дозировке 10 ммоль/кг, установленной на основании предварительных экспериментов по выбору концентрации и типа хелатора. Раствор вносили под корень спустя 2 недели после прорастания тест-культур. Для формирования микоризного симбиоза с тест-культурами проводили инокуляцию семян грибом рода *Glomus* посредством припосевного внесения в количестве 1 г на сосуд. Срок вегетации составил 65 дней, что соответствует фазе выхода в трубку.

Все эксперименты проводили в трехкратной повторности. После окончания вегетационного периода проводили отбор образцов почвы и растений для определения содержания ТМ и микробиологической активности.

В качестве индикаторов фитоэкстракции ТМ выступали морфобиометрические показатели пырея ползучего (*E. repens*) и люцерны посевной (*M. sativa*) и распределение ТМ по органам растений. Показатели загрязнения почв в опытах приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Показатели загрязнения почв модельного опыта

Показатель		Чернозем	Хемозем	
Содержание ТМ, мг/кг	Mn	валовое содержание	823,44±2,21	2570,22±40,34
		подвижные формы	130,42±7,21	870,83±19,2
	Zn	валовое содержание	64,2±8,2	301,04±7,31
		подвижные формы	11,70±0,34	67,94±3,14
	Ni	валовое содержание	60,40±3,68	161,75±1,09
		подвижные формы	5,47±0,23	38,71±2,2
	Pb	валовое содержание	27,9±4,38	63,94±1,64
		подвижные формы	2,58±0,15	12,72±1,47
	Cu	валовое содержание	37,9±5,8	125,27±2,1
		подвижные формы	3,37±0,16	19,06±1,12
	Cd	валовое содержание	0,34	2,8±0,23
		подвижные формы	0,10±0,0	0,9±0,16
	Cr	валовое содержание	95,80±2,3	120,3±5,22
		подвижные формы	8,31±0,23	18,14±3,29
Z _c	валовое содержание	-	18	
	подвижные формы	-	34	

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

4.1 Техногенно загрязненные почвы углеотвалов Восточного Донбасса и их микробные сообщества

Почвы углеотвалов шахт "Аютинская" и "Майская" характеризуются разнородностью своего состава. Характерно средне- и тяжелосуглинистое ГМС. Наблюдается тенденция утяжеления гранулометрического состава по мере удаления от углеотвалов. Для шахт Аютинская среднее содержание Сорг составляет 2,46%. Содержание Сорг в почвах углеотвала Майский ниже и в среднем составляет 1,77%. Значение рН почв на территории углеотвалов в среднем характеризуются слабощелочной и близкой к нейтральной реакцией среды (7,18-7,55). При этом отмечается высокая пространственная вариабельность: для почв углеотвала шахты Аютинская минимальные и максимальные значения рН составляют 7,19 и 8,3, соответственно, а для углеотвала шахты Майская - от 4,04 до 8,37. Низкие значения рН обусловлены образованием серной кислоты и сульфатов железа при окислении пирита. В почвах территорий, подверженных влиянию углеотвалов, установлено превышение ПДК/ ОДК для As, Ni, Cu, Zn, Pb, при этом содержание металлов в фоновом черноземе не превышает нормативных значений. Для большинства исследованных почв характерно загрязнение As в пределах 1-4 ОДК. Зафиксировано загрязнение сразу несколькими ТМ (Ni, Cu, Zn, Pb) в хемоземе А5 (шахта "Аютинская"). Данная особенность элементного состава, вероятно, обусловлена составом материала породных отвалов, сформировавших террикон. Валовое содержание исследуемых металлов убывает в ряду: Mn >

Zn > Cr > Cu > Ni > Pb > As > Cd. Почти все почвы (за исключением пелозема А8), подверженные влиянию терриконов шахты "Аютинская", содержат концентрации подвижных форм ТМ, превышающие ПДК, при этом наибольшая подвижность и превышение нормативов отмечается для Ni. В почвах зоны влияния терриконов шахты "Майская", наблюдаются превышения значений ПДК подвижных форм Pb в 1-3 раза, Ni в 1-5 раз, Cu - в 1-1,5 раза.

В фоновом черноземе отмечена типичная для зональных почв численность исследуемых групп микроорганизмов. Доля быстрорастущих бактерий составляла лишь 24%, что косвенно свидетельствует о стабильном состоянии экосистемы. Коэффициент минерализации значительно превышает единицу (1,72). Это является характерным для целинных черноземов, что говорит о преобладании процессов минерализации азотсодержащей органики. Наименьшая численность микроорганизмов была обнаружена в черноземе М3 углеотвала шахты Майская и составила 0,49 млн КОЕ/г аммонификаторов и 1,11 млн КОЕ/г прототрофов. При этом, в данной почве отмечено доминирование R-стратегов, что указывает на то, что микробное сообщество находится в состоянии стресса и сформировано оппортунистическими видами. Столь выраженное снижение численности может быть связано с загрязнением почвы угольной пылью ($69,0 \pm 3,2$ %), кроме того, на поверхности почвы наблюдалась корка засоления. Актиномицеты в данной почве не обнаружены. Плесневые грибы не обнаруживаются даже в самом низком разведении (0,1 г почвы). В целом, численность культивируемых бактерий в почвах, расположенных у подножия террикона, характеризовались более высокой долей быстрорастущих аммонификаторов по сравнению с черноземами техногенно-нарушенными на удалении от тела углеотвала (рисунок 5). Под влиянием миграции поллютантов из углеотвалов и поступления угольной пыли изменяется экологическая структура микробных сообществ, при этом преимущество получают микроорганизмы с r-стратегией роста. По мере удаления от углеотвала данный эффект постепенно снижается. Так, чернозем М2 расположен дальше от склона углеотвала (41 м) и доля R-стратегов в его сообществе снижена до 44%. Как и в ненарушенной почве, в данной почве преобладают процессы минерализации азота ($K_{\text{мин}} = 1,82$). Поверхность почвы покрыта растительностью и включений угля в ходе визуального осмотра не обнаружено. Преобладание процессов минерализации над иммобилизационными процессами указывает на то, что микробное сообщество получает сравнительно мало свежего органического вещества и близко по состоянию к естественным стабильным сообществам, хотя и менее многочисленно, чем сообщества в почвах, расположенных на большем расстоянии от тела углеотвала.

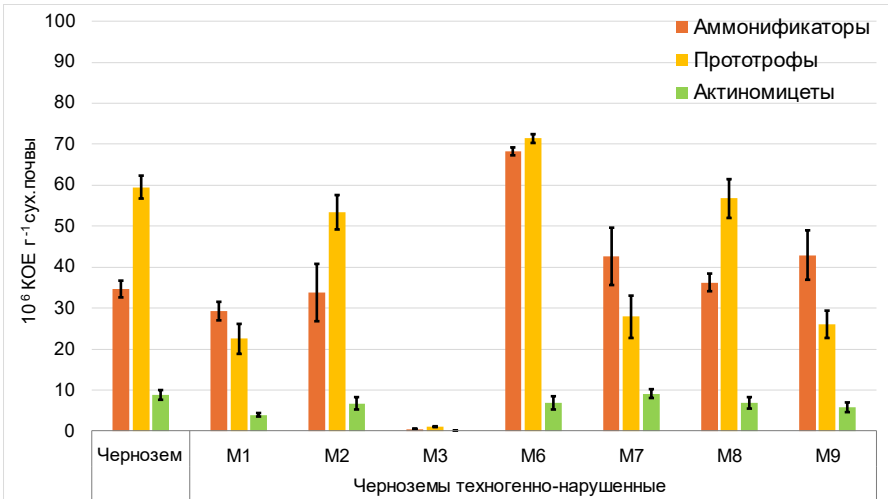


Рисунок 5 – Численность основных групп прокариот в исследуемых почвах углеотвала шахты Майская

Численность почвенных грибов достоверно различалась и демонстрировала слабовыраженный общий тренд увеличения при отдалении от склона террикона. В М3 грибы не обнаруживались.

Окрестности углеотвала шахты Аютинская разделяются на две группы площадок: непосредственно склоновая зона отвала (покрытая пелоземами), зона у подножия углеотвала и прилегающая к реке Аюта, где отсыпка насыпного породного материала не производилась и сформировались техногенно-нарушенные черноземы и хемоземы. В почвах Аютинского углеотвала доля R-стратегов в сообществах ниже, чем в почвах Майского углеотвала, что может быть связано со значительным сроком, прошедшим с момента прекращения его активного функционирования.

Во всех исследованных почвах доминировали прототрофы (рисунок 6). Понижение численности микроорганизмов в А4 и А5 вероятно обусловлено высоким уровнем загрязнения ТМ, особенно их подвижными формами. Кроме того, данные почвы характеризуются высоким содержанием мелкой (А4) и крупной (А5) фракций угольных включений. Во всех почвах количество прототрофных и аммонифицирующих микроорганизмов было ниже, чем в контрольной почве. В тенденцию не входит чернозем А2, что может быть связано с интенсивным развитием растительного покрова в условиях достаточного увлажнения при умеренно-опасном уровне загрязнения. Хемозем А5 расположен ближе всего к основанию террикона, и по содержанию подвижных форм ТМ суммарный показатель загрязнения характеризуется как чрезвычайно опасный. Это может объяснять аномально высокую долю актиномицетов в сообществе, так как они проявляют большую толерантность к ТМ по сравнению с немителиальными бактериями. При этом

в черноземе А2 на берегу р. Аюта, в микробном сообществе доминировали немиецелиальные бактерии, а доля актиномицетов была минимальной из-за конкуренции внутри микробных сообществ в условиях высокой влажности.

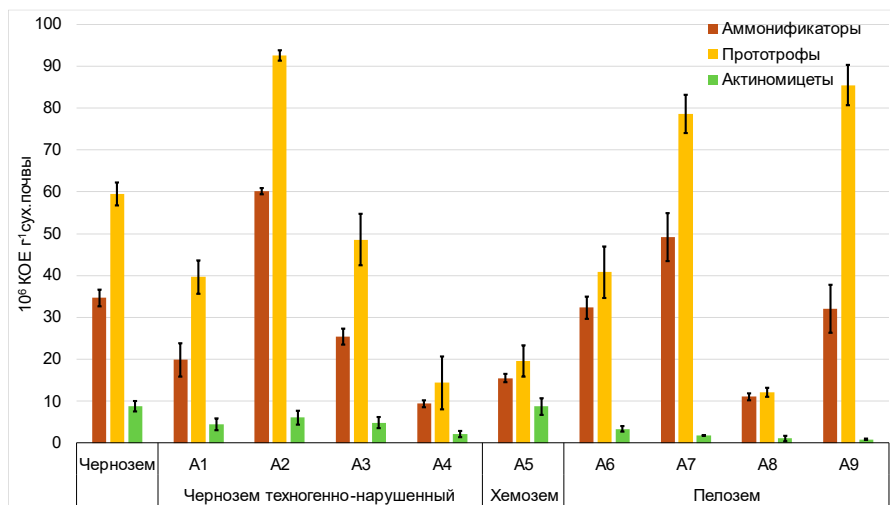


Рисунок 6 – Численность основных групп прокариот в исследуемых почвах углеотвала шахты Аютинская

В почвах, расположенных на склоне углеотвала, численность прототрофов увеличивается с повышением высоты и приближением к вершине отвала, в то время как численность актиномицетов снижается. По сравнению с почвами у основания отвала, численность актиномицетов снижалась в 2,5 раза. Численность аммонифицирующих бактерий варьировала в диапазоне 32–49 10⁶ КОЕ/г в зависимости от высоты отбора проб и не демонстрировала значительных отличий от контроля. Доля быстрорастущих аммонификаторов составляла 48–60%. Низкое число актиномицетов, являющихся К-стратегами и достаточно высокая доля быстро растущих видов может свидетельствовать о том, что микробное сообщество рекультивационного слоя все еще не достигло стабильного состояния. Расчёт коэффициента минерализации показал, что во всех почвах углеотвала шахты Аютинская преобладают процессы иммобилизации азота. Количество микроскопических грибов варьировало и в целом было ниже, чем на контрольном черноземе, кроме хемозема А5 и пелозема А6 (рисунок 7).

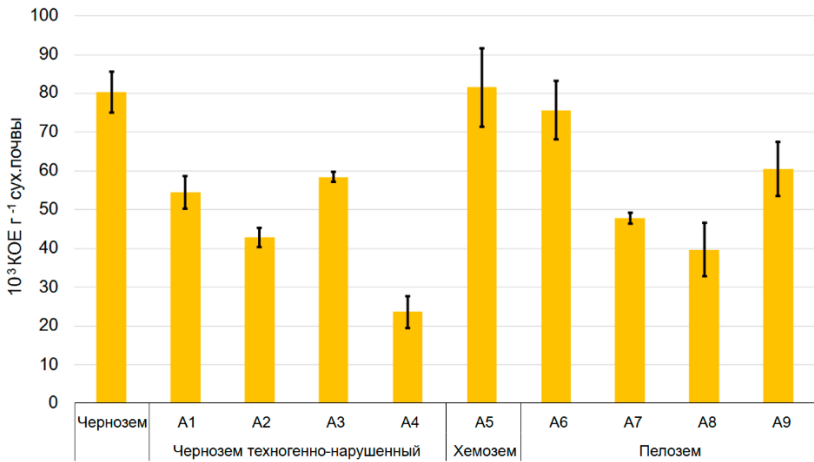


Рисунок 7 – Численность плесневых грибов в исследуемых почвах углеотвала шахты Аютинская

Обнаружена отрицательная корреляция средней силы ($r=-0,68$) между содержанием подвижных форм Zn и численностью аммонификаторов. Рассчитана средняя по силе положительная связь ($r=0,67$) численности актиномицетов с содержанием подвижных форм Ni. Известно, что Ni является необходимым микроэлементом для стрептомицетов, поскольку входит в состав активного центра их супероксиддисмутазы.

Таким образом, хемозем А5 характеризуется полиметаллическим загрязнением и его микробное сообщество угнетено, что послужило причиной его выбора для дальнейшего изучения фиторемедиации.

4.2 Влияние хелатирующих агентов на биодоступность тяжелых металлов и структуру микробных сообществ хемозема

При внесении хелатирующих агентов в техногенно нарушенную почву общее содержание ТМ не изменялось. Увеличение содержания подвижных форм в почве зависело как от типа хелатирующего агента, так и от его концентрации. Na-ЭДТА увеличивал подвижность ТМ больше, чем лимонная и щавелевая кислоты. Содержание подвижных форм ТМ увеличивается дозозависимо при внесении хелатирующих агентов выше 2 ммоль/кг. Наибольшее содержание подвижных форм ТМ обнаружено при внесении наибольшей концентрации (10 ммоль/кг) хелаторов. Внесение 10 ммоль/кг Na-ЭДТА приводило к увеличению содержания подвижных форм в 2,0–2,3 раза для Zn, Pb и Cu и в 1,4–1,8 раза для Cd и Ni. Среди изученных металлов биодоступность уменьшается в ряду: $Cd > Zn \geq Ni > Cu > Pb$. Наиболее эффективным комплексообразующим соединением оказался Na-ЭДТА, поскольку ЭДТА является гексадентатным лигандом. Лимонная и щавелевая кислоты в меньшей степени трансформировали прочно связанные

формы ТМ в подвижных формы, поскольку они являются тридентатными и бидентатными лигандами.

Установлен дозозависимый эффект между накоплением ТМ растениями и увеличением подвижности металлов при внесении хелатирующих агентов. Внесение лимонной кислоты в дозе 10 ммоль/кг привело к наиболее высокому увеличению содержания Pb в корнях *E. repens* в 4,4 раза, Cu в 3,6 раза, Cd в 2,8 раза, Zn в 2,3 раза и Ni в 3,8 раза. В биомассе *M. sativa* отмечено увеличение содержания Ni в побегах в 6,1 раза, Cd и Cu в 4,2 и 6,1 раза, Zn в 2,6 раза и Pb в 4,0 раза. Вероятно, это связано с тем, что лимонная кислота усваивается быстрее и менее токсична по сравнению с ЭДТА. Интенсивность поступления ТМ в корни растений увеличивалась при дозах 5-10 ммоль/кг хелатирующих агентов (рисунок 8). Самые высокие значения КН были обнаружены в вариантах, обработанных лимонной кислотой. Среди исследованных металлов наибольшую интенсивность транслокации в корни растений имеет Cd, а наименьшую — Ni. Следует отметить, что значения КН для *E. repens* выше, чем для *M. sativa*. Таким образом, накопление ТМ в тканях ($КН > 1$) наблюдается для всех металлов, за исключением Ni для *E. repens*, тогда как для *M. sativa* оно было показано только для Cd и Pb. Транслокация ТМ в побеги связана с концентрацией хелатирующих агентов в почве, все металлы показывают $АК < 1$ для *E. repens* и $АК > 1$ для *M. sativa*. Среди исследованных металлов наибольшую скорость транслокации в побеги имеют Cd и Pb, тогда как наименьшую скорость транслокации имеет Ni. Для *E. repens* характерен акропетальный тип распределения Cd, Zn, Ni, Cu и Pb, тогда как для *M. sativa* характерен базипетальный тип.

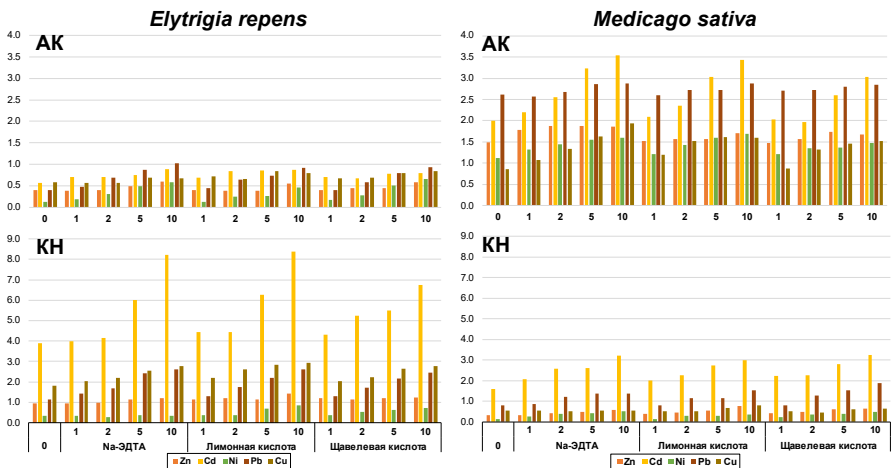


Рисунок 8 – Акропетальный фактор и коэффициент накопления ТМ в *Elytrigia repens* и *Medicago sativa*

При добавлении Na-ЭДТА и лимонной кислоты численность аммонифицирующих бактерий увеличивается в 4,0–8,6 раза по сравнению с необработанной загрязненной почвой (рисунок 9). Численность прототрофных бактерий снижается в 1,9–9,0 раза с повышением концентрации хелатирующих агентов более 1 мМ. Плесневые грибы, дрожжи и целлюлозолитические бактерии оказались нечувствительны к обработке.

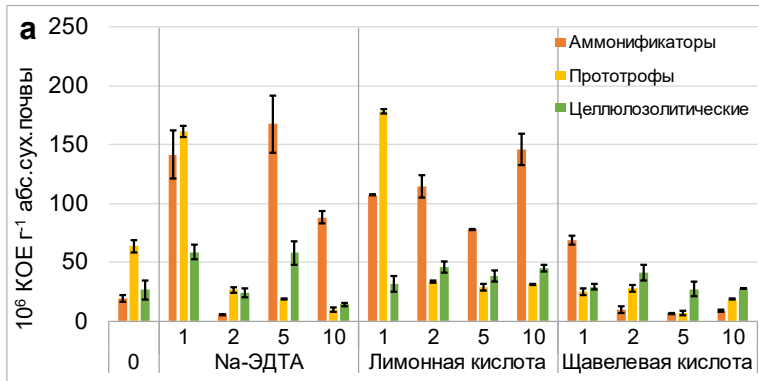


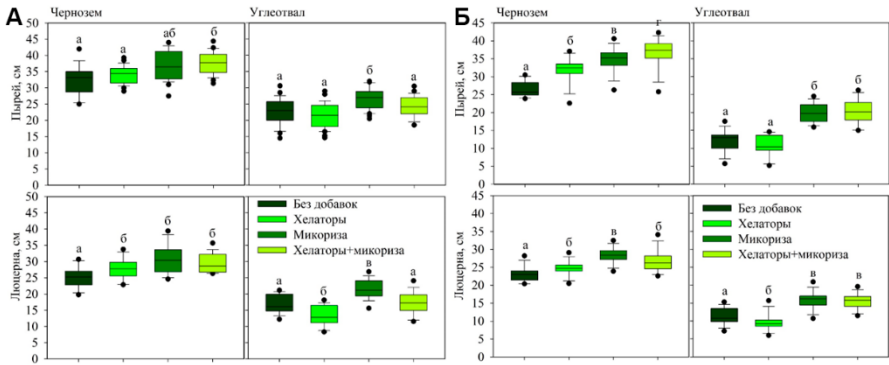
Рисунок 9 – Влияние хелатирующих агентов на экологическую структуру культивируемых микроорганизмов в хемоземе: 0 – без добавления

Результаты MANOVA показывают, что численность культивируемых микроорганизмов в основном зависит от типа хелатирующего агента и в меньшей степени от его концентрации.

Таким образом, лимонная кислота в концентрации 10 мМоль/кг является эффективным хелатирующим агентом, способствующим транслокации ТМ и не угнетающим микробные сообщества, что обусловило ее выбор для дальнейших исследований.

4.3 Оценка эффективности биоремедиации почв углеотвалов Восточного Донбасса

С использованием многофакторного дисперсионного анализа установлено, что изменение длины надземной и подземной части тест-культур в модельном опыте существенно зависит от уровня загрязнения, внесения хелаторов и/или микоризы, а также от вида растения. Установлено, что в контроле медианная длина корней и побегов пырея составляет 33,2 см и 25,7 см, у люцерны - 25,3 см и 23,1 см, соответственно. В почве углеотвала морфобиометрические показатели резко снижены: 23,5 и 16,3 для побегов и 13,1 и 10,9 для корней, соответственно. При внесении добавок в почву морфометрические характеристики тест-культур значительно увеличиваются, что особенно выражено в варианте с хелаторами совместно с микоризой (рисунок 10).



Буквами отмечены значительные различия длины побегов между растениями пырея и люцерны при внесении добавок в загрязненную и незагрязненную почву с использованием апостериорного критерия Тьюки при $p < 0,05$

Рисунок 10 – Длина побегов (А) и корней (Б) пырея и люцерны в модельном вегетационном опыте

Применение хелатора не оказывает существенного влияния на рост растений. При внесении микоризы наблюдается значительное увеличение длины надземной части: до 27,0 см и 21,2 см у пырея и люцерны, соответственно. Длина подземной части значительно увеличивается при внесении в загрязненную почву микоризы по отдельности или совместно с хелаторами до 19,7–20,2 см у пырея и 15,8–16,2 см у люцерны.

Сухая масса надземной части пырея на контрольном варианте составляет 3,1 г, люцерны – 2,6 г. У растений на почве углеотвала наблюдается увеличение сухой массы надземной в 1,3 раза и подземной части - в 1,2 раза по отношению к контролю (рисунок 11). Совместное применение хелатора и микоризы приводит к увеличению сухой массы надземной части растений в 1,9 раз, подземной – в 3,4 раза по сравнению с вариантами без внесения добавок в почвы углеотвала.

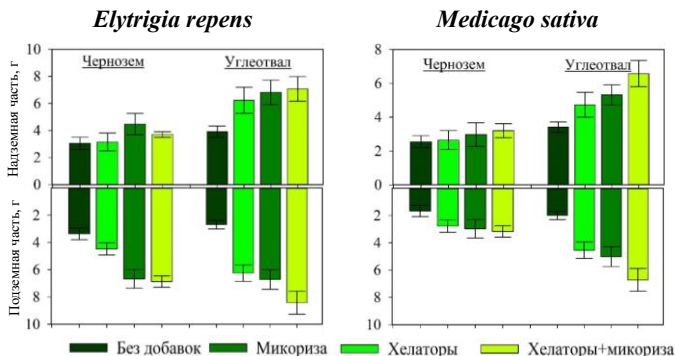


Рисунок 11 – Масса растений в модельном вегетационном опыте

Использование метода индуцированной фитоэкстракции (применение хелатирующего агента) приводит к большей аккумуляции ТМ в растениях по сравнению с припосевной инокуляцией семян грибом *Glomus sp.* Так, суммарный вынос ТМ люцерной при внесении хелатирующего агента в почву углеотвала, увеличивается с 6,2 кг/га до 11,2 кг/га, а при использовании симбиотических микроорганизмов лишь до 7 кг/га. Наибольший фиторемедиационный потенциал травянистых растений по отношению к Mn, Zn, Ni, Pb, Cu, Cr и Cd выявлен при сочетанном влиянии микоризации и хелатора. При этом суммарный вынос ТМ растениями увеличивается более чем в 2 раза и составляет для люцерны 13,7 кг/га, а для пырея – 3,6 кг/га. Среди изучаемых металлов наибольший вынос люцерной установлен по Mn (5,6 кг/га) и Zn (2,6 кг/га), а наименьший – по Ni (0,9 кг/га) и Cd (0,3 кг/га).

В почве террикона наблюдается повышение КН пырея для таких токсичных элементов как Cd и Pb до 6,7 и 2,8 соответственно, тогда как у люцерны КН Cd достигает 4,7 и Pb до 1,5. При внесении хелатора и микоризы как совместно, так и раздельно, увеличивается транслокация металлов в корни растений. При этом значение КН превышает 1, особенно у пырея: Mn 0,8 < Cr 1,2 < Zn 1,7 < Cu 3,0 < Pb 3,7 < Ni 2,0 < Cd 15,8. Это подтверждает поступление металлов в корни растений и свидетельствуют об эффективности метода индуцированной фиторемедиации. В корнях люцерны наблюдается несколько меньшая эффективность влияния хелатора и микоризы: КН Zn 0,8, Cd 7,6, КН Pb 2,1, КН Cr 1,5 по сравнению с пыреем, что, вероятно, связано с разным механизмом поглощения потенциально токсичных элементов и адаптации к ним.

Растения пырея на контрольном варианте характеризуются низкой транслокацией металлов из корней в стебли, даже при внесении хелатора и микоризы: величина АК не превышает 0,9. Несмотря на высокую концентрацию металлов в почве террикона, в корнях пырея АК не превышает 1, что говорит о накоплении металлов в корнях и активизации защитных физиологических барьеров. Внесение микоризы и хелатора в почву террикона привело к повышению транслокации металлов из корней в стебли, что подтверждается увеличением АК до 0,7 для Cd. В растениях люцерны наблюдается накопление металлов в стеблях: АК Mn 1,2 < Cd 1,5 < Cr 1,8 < Pb, Ni 1,9 < Zn 2,6 < Cu 3,7. Внесение хелатора и микоризы увеличивает транслокацию металлов в стебли люцерны из корней. При внесении в почву террикона микоризы и хелатора АК увеличивается до Mn 1,2 < Zn 1,9 < Pb 2,3 < Ni 2,0 < Cd, Cr 2,5 < Cu 3,5. Увеличение АК в растениях люцерны показывает эффективность приемов индуцированной фиторемедиации, поскольку подтверждает транслокацию металлов из корней в стебли. Следует отметить наибольшую эффективность применения хелатора совместно с микоризой для увеличения фитостабилизационного потенциала пырея и фитоэкстракционного потенциала люцерны по отношению к таким высокотоксичным элементам как Cd и Pb.

При внесении лимонной кислоты численность аммонификаторов достоверно не изменяется (рисунок 12). Внесение препарата микоризы привело к синергическому увеличению численности микроорганизмов с $88,7 \pm 2,1$ до $128,6 \pm 3,2 \cdot 10^6$ КОЕ г^{-1} сух.почвы. Совместное внесение микоризного препарата и хелатирующего агента привело к менее выраженному росту численности бактерий до $117,2 \pm 0,6 \cdot 10^6$ КОЕ г^{-1} сух.почвы относительно фоновых значений. Можно сделать вывод о том, что индуцированная фиторемедиация не снижает общую численность бактерий в почвах.

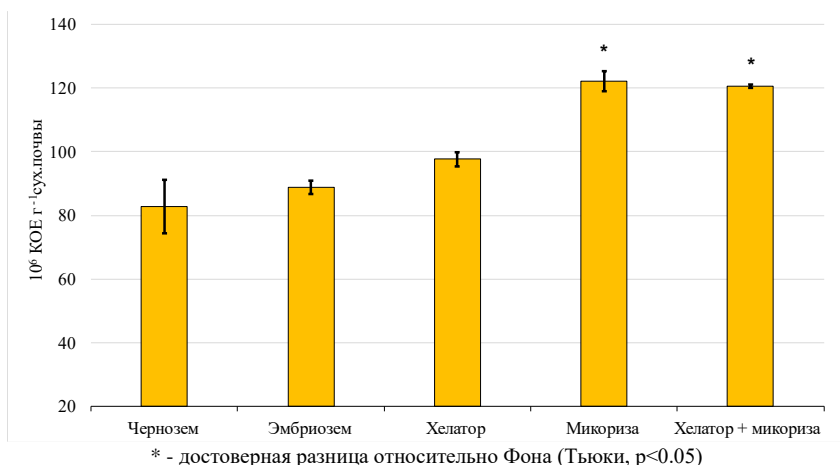


Рисунок 12 - Численность аммонификаторов в почвах при воздействии различных факторов индуцированной фиторемедиации.

ВЫВОДЫ

1. Использование различных групп микроорганизмов, включая арбускулярные микоризные грибы, неарбускулярные грибы и бактерии, существенно влияет на накопление ТМ в растениях в ходе индуцированной фиторемедиации. Эдафические факторы, такие как содержание органического углерода и рН, также влияют на эффективность фиторемедиации, хотя и в меньшей степени, чем биотические факторы. Микробно-индуцированная фитоэкстракция может быть менее эффективной в почвах, богатых органическим веществом, и в почвах с нейтральным рН.

2. Микробоценоз почв площадок углеотвалов определяется подвижностью ТМ, таких как As, Pb, Zn, Ni, Cu. В сообществах значительно загрязненных ТМ почв подножья углеотвала Аютинского обнаружено больше быстрорастущих аммонификаторов с г-стратегией роста (70% против 53% в пелоземах склона) и актиномицетов, что показывает адаптацию сообществ к техногенному прессингу. Почвенные микромицеты сравнительно более толерантны к присутствию ТМ.

3. Внесение в почву 5 и 10 ммоль/кг хелатирующих агентов (Na-ЭДТА, лимонной и щавелевой кислот) привело к увеличению фитостабилизационного потенциала *E. repens* и фитоэкстракционного потенциала *M. sativa*. Наибольшая интенсивность накопления металлов в растениях наблюдалась в вариантах с добавлением органических кислот, особенно лимонной кислоты. Лимонная кислота в дозе 10 ммоль/кг оказалась наиболее эффективным хелатирующим агентом, так как способствовала эффективному накоплению ТМ в растениях с различным типом распределения элементов, что и привело к увеличению в корнях *E. repens* содержания Pb в 4,4 раза, Cu в 3,6 раза, Cd в 2,8 раза, Zn в 2,3 раза и Ni в 3,8 раза. В биомассе *M. sativa* отмечено увеличение содержания Ni в побегах в 6,1 раза, Cd и Cu в 4,2 и 6,1 раза, Zn в 2,6 раза и Pb в 4,0 раза.

4. Внесение в почву хелатора и микоризы, как совместно, так и раздельно, стимулирует транслокацию металлов в корни растений, особенно Cd, Pb и Cu, что подтверждает повышение фитостабилизационного потенциала пырея и повышение его суммарного выноса ТМ в 2,2 раза (КН = 4,03). В корнях люцерны наблюдается меньшая эффективность влияния хелатора и микоризы по сравнению с пыреем, суммарный вынос из хемозема повысился в 2 раза (КН = 1,96). Внесение микоризы и хелатора в почву террикона привело к незначительному повышению транслокации металлов из корней в стебли пырея (АК 0,49). В растениях люцерны наблюдается накопление металлов в стеблях, внесение хелатора и микоризы увеличивает транслокацию металлов из корней в стебли люцерны.

5. Индуцированная фиторемедиация не снижает численность аммонификаторов в почвах. При внесении лимонной кислоты общая численность микроорганизмов достоверно не изменяется. Внесение препарата микоризы привело к синергическому увеличению численности микроорганизмов с $88,7 \pm 2,1$ до $128,6 \pm 3,2 \cdot 10^6$ КОЕ г⁻¹сух.почвы. Совместное внесение микоризного препарата и хелатирующего агента привело к менее выраженному увеличению численности бактерий до $117,2 \pm 0,6 \cdot 10^6$ КОЕ г⁻¹сух.почвы.

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. The effect of chelators on the microbiota and phytoremediation of coal dump soils / F. D. Ivanov, E. P. Pulikova, A. V. Gorovtsov [et al.] // International Journal of Environmental Science and Technology. – 2025. – Vol. 22, No 15. – P. 15625-15636. – DOI 10.1007/s13762-025-06675-z. K1.

2. 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, № 12. – P. 9373-9390. – DOI 10.1007/s10653-022-01405-7. 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. Potential of nickel and cobalt resistant microorganisms for effective phytoremediation of heavy metal contaminated soils / T. V. Siunova, A. E. Filonov, A. V. Gorovtsov [et al.] // *Discover Environment*. – 2025. – Vol. 3, № 1. – Art. No. 99. – DOI 10.1007/s44274-025-00301-y.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

AMF – (arbuscular mycorrhizal fungi) грибы, образующие с растениями арбускулярную микоризу

non-AMF – (non-arbuscular mycorrhizal fungi) грибы, не относящиеся к образующим арбускулярную микоризу

A1-A9 – точки отбора почв в зоне воздействия Аютинского углеотвала

AK – акропетальный коэффициент

KN – коэффициент накопления

M1-M9 – точки отбора почв в зоне воздействия Майского углеотвала

ПАУ – полициклические ароматические углеводороды

ТМ – тяжелые металлы