

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

На правах рукописи



ИВАНОВ ФЕДОР ДМИТРИЕВИЧ

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНДУЦИРОВАННОЙ
БИОРЕМЕДИАЦИИ ПОЧВ УГЛЕОТВАЛОВ ВОСТОЧНОГО
ДОНБАССА

ДИССЕРТАЦИЯ

На соискание ученой степени
кандидата биологических наук

1.5.19. Почвоведение (биологические науки)

1.5.15. Экология (биологические науки)

Научные руководители:

Доктор биологических наук, профессор Минкина Т. М.,

Кандидат биологических наук, доцент Горовцов А.В.

Ростов-на-Дону – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

Оглавление	2
Введение	4
Глава 1 Обзор литературы	10
1.1 Механизмы защиты растений от токсичности тяжелых металлов	12
1.2 Фиторемедиация как подход к очистке загрязненных тяжелыми металлами почв ...	13
1.3 Растительно-микробные ассоциации как форма существования растений	16
1.4 Растительно-микробные ассоциации в присутствии тяжелых металлов и перспективы их использования в фиторемедиации	18
1.5 Влияние микроорганизмов на поглощение тяжелых металлов в процессе фиторемедиации.....	21
1.6 Проблемы оценки эффективности биологических агентов индуцированной ремедиации	26
Глава 2 Объекты и методы исследования	28
2.1 Объекты исследования	28
2.2 Методы исследования	31
Глава 3 Методология исследований	38
3.1 Проведение метаанализа влияния микроорганизмов на накопление тяжелых металлов растениями.....	38
3.2 Закладка модельных экспериментов.....	52
Глава 4 Техногенно загрязненные почвы углеотвалов Восточного Донбасса и их микробные сообщества	57
4.1 Влияние породных отвалов на накопление тяжелых металлов в почвах	57
4.2 Микробиологические свойства исследуемых почв углеотвалов	64
Глава 5 Влияние хелатирующих агентов на биодоступность тяжелых металлов и структуру микробных сообществ хемозема.....	77
5.1 Влияние хелатирующих агентов на валовое содержание и подвижность тяжелых металлов в хемоземе	77
5.2 Влияние хелатирующих агентов на накопление тяжелых металлов в растениях	80
5.3 Влияние хелатирующих агентов на структуру микробных сообществ хемозема	88
Глава 6 Оценка эффективности биоремедиации почв углеотвалов Восточного Донбасса	92
6.1 Влияние микоризации и хелатирующих агентов на физико-химические свойства хемозема	92

6.2 Влияние микоризации и хелатирующих агентов на морфометрические показатели дикорастущих травянистых растений при разном уровне загрязнения почв	96
6.3 Влияние микоризации и хелатирующих агентов на подвижность и в почвах и накопление ТМ и дикорастущих травянистых растениях	100
6.4 Комплексная оценка эффективности применения индуцированной биоремедиации на техногенно загрязненной почве с использованием биогеохимических показателей	106
Выводы	111
Список сокращений.....	113
Список литературы.....	114
ПРИЛОЖЕНИЕ А	147

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность

Восточный Донбасс является экологически неблагоприятным регионом РФ, исторически подвергающимся техногенному загрязнению со стороны металлургической и угледобывающей промышленности. Реструктуризация и закрытие многих шахт только усугубило их негативное влияние на регион. Характерным последствием закрытой разработки угля является отсыпка терриконов, которые являются причиной загрязнения почв и воздуха (Артамонова, Бортникова, 2022а). 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). Тело террикона подвержено ветровой и водной эрозии, кислотному гидролизу, что способствует миграции поллютантов, таких как тяжелые металлы и металлоиды (ТМ) в геохимически подчиненные ландшафты. Происходит аккумуляция избыточных концентраций Zn, Cd, Ni, Pb, Mn, Cr, Cu в почвах, изменение их свойств и рост их биодоступности (Константинова и др., 2022; Minkina et al., 2024). Данные факторы угнетают развитие растений и естественное зарастание терриконов, что могло бы препятствовать эрозии склона (Rahmonov et al., 2022).

Загрязнение пылью близко прилегающих территорий населенных пунктов, в том числе городских районов (гг. Шахты, Новошахтинск, Гуково и т.д.) являются одной из серьезнейших экологических проблем Ростовской области (Фишкин, 2025). Рыхлое сложение тела террикона способствует переносу мелкодисперсных частиц породы, содержащей ТМ, в жилые и рекреационные зоны. Такое пылевое загрязнение ухудшает качество воздуха, оказывает негативное воздействие на здоровье населения, способствует развитию респираторных заболеваний и снижает общую экологическую безопасность городов, расположенных вблизи углепородных отвалов шахт (Туровский, Любская, 2023; Zhang et al., 2024).

Ремедиация это процесс восстановления функциональных и экологических свойств природных компонентов, происходящий в ходе устранения или снижения негативного антропогенного воздействия на окружающую среду (Копчик, 2014). Для консервации и восстановления почв техногенных территорий, подверженных полиметаллическому загрязнению, активно применяются такие методы рекультивации, как индуцированная фиторемедиация (Косапан, 2023). 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 (Ivanov et al., 2025). 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 использовании 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 (Jampasri et al., 2020; Junpradit et al., 2021; Li et al., 2021). Однако требуется не только разрабатывать и изучать протекание ремедиации техногенных почв в зонах влияния углеотвалов при совместном применении хелатирующих агентов и микроорганизмов, но и ее влияние на экологическую структуру нативного микробного сообщества, которое необходимо для осуществления экосистемных функций почвы (Артамонова, Бортникова, 2022a; Nikitin et al., 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 нарушенных 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 фиторемедиации ТМ в техногенно нарушенных почвах и на состояние их микробных сообществ.

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 биоремедиации 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. Теоретические и научно-методические вопросы химии почв. Изучение взаимодействия органических и минеральных компонентов почв. Техногенное и агрогенное химическое загрязнение почв, изменение их естественной кислотности, химического состава и физико-химических свойств.», «7. Теоретические и научно-методические вопросы биологии и биохимии почв. Изучение катионно-анионного равновесия в почвах и взаимодействия в них органических и минеральных составляющих,

изучение состава и свойств органического вещества почв. Почвенная зоология и микробиология. Метагеном почв.»

Тема диссертационной работы соответствует паспорту специальности ВАК 1.5.15 Экология пунктам «1. Закономерности влияния абиотических и биотических факторов на организмы. Экофизиология (факториальная экология). Адаптации организмов к различным факторам среды. Жизненные формы и адаптивные типы. Изменение организмами среды обитания.».

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 всероссийских и международных конференциях: 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 молодежном 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 анализы 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 диссертации опубликовано 4 научные статьи, из них: 4 – в журнале, индексируемом в наукоемких базах Scopus и Web of Science, 0 – в журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий ЮФУ и ВАК.

Структура и объем 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 источника, 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 и Программы стратегического академического лидерства Южного федерального университета («Приоритет 2030»), с использованием оборудования ЦКП «Биоинженерия почв» (соглашение № 075-15-2025-667), в рамках программы развития межрегионального научно-образовательного центра Юга России (FENW-2024-0001).

Благодарности. Автор выражает признательность сотрудникам кафедры почвоведения и оценки земельных ресурсов, сотрудникам лабораторий "Агробиотехнологии для повышения плодородия почв и качества сельскохозяйственной продукции", Научно-исследовательской лаборатории мониторинга биосферы, 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, к.б.н., доценту А.В. Горовцову за их неоценимый вклад в написание данной диссертации.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Тяжелые металлы (ТМ) являются группой металлов и металлоидов, состав которой является предметом дискуссий, разные авторы включают в данное понятие от 57 до 118 различных элементов (Водяницкий, 2013; Kiran et al., 2022). Часто упоминаемыми являются такие элементы, как: Pb, Cd, Zn, Fe, Hg, Se, Tl, Sb, Cd, Co, V, Hg, Ni, Cu, Cr, As, Ba. По отношению к живым организмам и использованию металлов для клеточного метаболизма металлы подразделяют на эссенциальные (Cu, Fe, Zn, Ni, Mo, Mn) и неэссенциальные (Cd, As, Hg, Pb). Эссенциальные металлы необходимы в низких концентрациях для нормального роста и развития живых организмов, но при их накоплении в среде обитания до опасного уровня ТМ становятся опасными загрязнителями, которые неблагоприятно воздействуют на различные мишени в живых клетках (Kiran et al., 2022). Для разных ТМ показано генотоксическое действие (Manoj et al., 2020), усиление окислительного стресса (Sharma, Dietz, 2009), подавление фотосинтеза (Prasad, 2005), нарушение углеводного обмена (Seregin, Kozhevnikova, 2006), роста (Parida et al., 2003) и регуляции водного режима (Llamas, Sanz, 2008).

Их соединения подвергаются аэральному, гидрогенному переносу, мигрируют вследствие использования в сельском хозяйстве осадков сточных вод, органических и минеральных удобрений или складирования на поверхности почвы отвалов золы, руд, шламов (Водяницкий и др., 2011; Gray et al., 2000; Wu et al., 2022b). В частности, загрязнение воздуха Hg происходит при сжигании угля, As – при работе производств, производящих керамику, а Cu, Zn, Cd – при сжигании биомассы (Вальков и др., 2004). Загрязнение почвы происходит при разработке руд, осаждении твердых частиц из воздуха, попадании в нее бытовых отходов, содержащих электронику и аккумуляторы. Аккумуляторы могут содержать такие металлы, как Hg, Pb, Cd, Ni, Ag, Zn и т. д. (Sahu, Basti, 2021). В результате индустриализации и урбанизации множество стран столкнулось с загрязнением почв ТМ (Ковязин, 2008; Huang

et al., 2019; Huang et al., 2019; Shaheen et al., 2020; Vikhman et al., 2009; Wan et al., 2021). Загрязнению подвергаются территории с различным типом землепользования, наиболее загрязненные ТМ почвы обнаруживаются вблизи крупных промышленных центров и производств (Barsova et al., 2019; Shifaw, 2018). В частности, обнаружено, что содержание подвижных форм Zn в природных территориях Таганрогского залива превышает медианные фоновые концентрации в 2,3 раза, в то время как медианное значение содержания в почвах города Таганрога превышает фоновые значения в 23,5 раз. Содержание подвижных форм Zn, Mn и Cd в почвах города Таганрога составляет до 270, 175 и 0,6 мг/кг, соответственно (Pulikova et al., 2023).

В классическом почвоведении постулаты В.В. Докучаева гласят, что почвы формируются под действием 5 факторов: почвообразующие породы, климат, рельеф, живые организмы и время (Докучаев, 2008). Однако с развитием научно-технического прогресса растет роль шестого фактора почвообразования – антропогенного воздействия (Двуреченский, 2020). Топливо-энергетическая отрасль, такая как добыча угля, является одной из важнейших отраслей экономики для целых регионов, однако ее масштабное негативное воздействие на окружающую среду нельзя недооценивать (Duarte et al., 2019). Угольные отвалы шахт образуют антропогенные элементы рельефа, являющиеся источником выбросов в окружающую среду, в том числе газов, пыли, потенциально токсичных химических (ТМ, серная и азотная кислоты) и радиоактивных веществ (соединения урана), которые мигрируют в окружающую почву и воду в результате сгорания горных пород, выветривания, эрозии, дегазации и выщелачивания (Зубова и др., 2015; Alekseenko et al., 2018; Pulikova et al., 2024). Для снижения негативного влияния отвалов на экосистемы используют различные технологии рекультивации и мелиорации, проводят выколаживание отвалов, нарезку террас, отсыпку экранирующих слоев и в ряде случаев отсыпка плодородного слоя почвы (Двуреченский, 2020). После данных этапов проводится биологическая рекультивация. Целью биологического этапа является

закрепление поверхности, ускорение ее зарастания и защита от эрозии, иммобилизация поллютантов, стимуляция почвообразования и создание автотрофной части экосистемы (Арчегова, 2015; Жуков, 2012; Зубова et al., 2020). При изучении техногенных ландшафтов было показано, что по сравнению с золоотвалами и хвостохранилищами, углеотвалы больше пригодны для биологической рекультивации (Двуреченский, Андроханов, 2017; Торохова, Агурова, 2008).

1.1 Механизмы защиты растений от токсичности тяжелых металлов

ТМ относятся к числу наиболее опасных загрязнителей окружающей среды из-за их неспособности к биодegradации. Среди них никель (Ni) отличается беспрепятственным проникновением в надземные органы растений (Deng et al., 2018). Ni более токсичен для растений, чем свинец (Pb), медь (Cu), хром (Cr) и цинк (Zn) (Kiran et al., 2022). Признаки токсичности проявляются при его накоплении в растениях в концентрациях около 50 мг/кг.

Были выявлены растения, способные к гипераккумуляции Zn, Cd, Co и Ni в вакуолях, такие как *Arabidopsis halleri* и альпийский кресс-салат (*Noccaea caerulescens*). Эти растения транспортируют металлы из цитозоля посредством сверхэкспрессии белков толерантности к металлам (Mandal, Basu, 2021). Растения адаптировались к выживанию в почвах с высоким содержанием металлов, используя различные механизмы, включая физические барьеры для поглощения металлов (например, кутикулу и трихомы), связывание металлов с фитохелатинами и металлотионинами, а также с азотсодержащими соединениями (например, пролином, аргинином, полиаминами) и серосодержащими соединениями (например, сероводородом, белками, богатыми серой). Кроме того, растения синтезируют регуляторы роста, такие как абсцизовая кислота, жасмоновая кислота, салициловая кислота, и антиоксидантные ферменты, такие как супероксиддисмутаза и каталаза, для снижения токсичности ТМ (Sachan, Lal, 2017).

1.2 Фиторемедиация как подход к очистке загрязненных тяжелыми металлами почв

Для восстановления почв техногенных территорий, подверженных полиметаллическому загрязнению, активно применяются различные методы рекультивации (Артамонова, Бортникова, 2022а). Фиторемедиация является экологичной и экономически выгодной технологией очистки почв от моно- и полиметаллического загрязнения, а также восстановления их экосистемных функций (Devi et al., 2022; Wu et al., 2021). Данная технология заключается в том, что в загрязненную почву высаживаются растения, способные накапливать в своей биомассе значительные концентрации металлов (Zhu et al., 2023). Существует два основных подхода в данной стратегии: фитоэкстракция и фитостабилизация (Тихомирова и др., 2024). Фитостабилизация направлена на преимущественное накопление ТМ в подземных органах растений или их иммобилизацию в ризосфере, что с одной стороны, снижает биодоступность и подвижность металлов в почве, а с другой стороны не позволяет им проникать и распространяться по пищевым цепям (Sharma et al., 2023). Фитоэкстракция направлена на преимущественную транслокацию ТМ в надземные части растений, которые в дальнейшем можно собрать и безопасно утилизировать. Таким образом обеспечивается удаление металлов из почвы (Yanitch et al., 2020). В почве доступность металлов значительно зависит от локальных условий. Кроме того, многие металлы имеют значительное сродство к минеральной части и органическому веществу почвы, это является причиной эффективности стратегии выделения органических кислот в ризосферу для увеличения переноса ТМ в корни растений (Dalvi, Bhalerao, 2013). Металлы сорбируются на поверхности корня, после чего перемещаются в ткани. Транспорт, в зависимости от элемента и его валентности, может проходить по апопластному или симпластному пути. Апопласт растительных клеток проницаем для гидрофильных веществ, но содержит большое количество свободных карбоксильных групп, которые иммобилизуют значительную часть ионов ТМ, но не их хелатные формы. Симпластически перемещающиеся ТМ легче достигают ксилемы,

накапливаясь в виде осадков карбонатов, фосфатов или сульфатов в вакуолях, проходя через мембранные каналы или соединяясь с молекулами-переносчиками. В такой форме они транспортируются в стеллу корня и попадают в сосуды ксилемы, по которой транслоцируются в побеги и листья (Pasricha et al., 2021). Баланс между активным транспортом ТМ в побеги и их секвестрацией в тканях корней определяет склонность растения к фитостабилизации или фитоэкстракции (Lasat, 1999). Критериями выбора растений для фиторемедиации являются: устойчивость к воздействию ТМ, высокие темпы их поглощения биомассой, высокая продуктивность собственной биомассы, а также низкие требования к условиям роста и минимальная привлекательность для травоядных животных (Kafle et al., 2022; Sarwar et al., 2017; Shabani, Sayadi, 2012).

Перспективным методом восстановления почв считается индуцированная фиторемедиация. Ее принцип заключается в том, что комплексообразующее соединение переводит ТМ в подвижную форму, что приводит к увеличению их накопления растениями-фиторемедиантами (Chen et al., 2023; Wu et al., 2021). Широко используемым и эффективным хелатором является натриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (Na-ЭДТА). Na-ЭДТА может увеличить накопление ТМ растениями до 200 раз (Burges et al., 2018). Также используются некоторые низкомолекулярные хелатирующие агенты, включая органические кислоты (лимонную, щавелевую, яблочную и т. д.), которые вырабатываются корнями растений (Ghazaryan et al., 2021). Кроме синтетических органических кислот, используются и сапротрофные микروмицеты рр. *Aspergillus* и *Penicillium*, которые являются естественными продуцентами лимонной и щавелевой кислот (Домрачева и др., 2022). Органические кислоты повышают ферментативную активность почвы и поддерживают популяции бактерий и взаимодействия в ризосфере. Эти механизмы способствуют росту растений и повышают их способность накапливать металлы (Kocaman, 2023; Ma et al., 2020). Однако, помимо влияния хелатирующих агентов на фитоэкстракцию и рост растений, очень

важно понимать их влияние на биологическую активность почвы во время фиторемедиации. Этот аспект в почвах, загрязненных ТМ, изучен недостаточно (Ma et al., 2020). Несмотря на свою эффективность, использование хелатирующих агентов связано с некоторыми ограничениями и экологическими рисками (Harmon, 2022). Из-за своей устойчивости к биодegradации комплекс металл-ЭДТА может выщелачиваться из профиля и вызывать загрязнение грунтовых вод (Postigo et al., 2018). Использование ЭДТА приводит к потере основных катионов и ухудшению физических и биохимических свойств почвы (характеристики удержания воды, фракционирование агрегатов и их стабильность) (Zuranc et al., 2014). Если концентрация хелатора слишком высока, то обнаруживаются негативные эффекты для растений и почвенной микробиоты (Nemkemeyer et al., 2021; Sabir et al., 2014). В связи с этими рисками особый интерес представляет сравнение эффективности и безопасности природных хелаторов (Shahid et al., 2014).

Часто растения не удовлетворяют части условий отбора: имеют недостаточно высокую устойчивость к стрессу от ТМ, большинство растений-гипераккумуляторов имеют низкую биомассу, скорость роста и избирательное поглощение ТМ. Это осложняет их использование для ремедиации почвы (Zhu et al., 2023). Для преодоления данных ограничений используется подход микробно-индуцированной биоремедиации. Биологическая стимуляция и поддержка значительно повышает эффективность фиторемедиации у растений, не являющихся гипераккумуляторами (McGrath et al., 2001; Sharma et al., 2023). Она может происходить посредством микробной деструкции поллютантов или косвенными механизмами, включающими выделение стимулирующих рост растений метаболитов, таких как фитогормоны, 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатдезаминаза, антибиотики (Boro et al., 2022). В данном подходе выделяют биоаугментацию и биостимуляцию. Биоаугментация происходит в тех случаях, когда необходимо быстро устранить незастарелое загрязнение в почвах с низкой численностью

микроорганизмов и заключается в том, что вносятся инородные микроорганизмы, способные активно способствовать очистке почвы. В длительно загрязненных, богатых гумусом и обладающих высоким микробным индексом почвах, применяют биостимуляцию. При использовании данного приёма в почву вносятся питательные вещества и компоненты, стимулирующие развитие местного микробного сообщества, которое обогащается представителями, способствующими очистке почвы (Сизенцов, Сальникова, 2024).

1.3 Растительно-микробные ассоциации как форма существования растений

В естественных условиях растения живут в тесном сотрудничестве с почвенными микроорганизмами в течение всей своей жизни (Shi et al., 2023). Микробиомом растений считается совокупность популяций бактерий, грибов и вирусов, которые тесно связаны с растением (Somenahally, 2017). Длительная совместная эволюция привела к тому, что многие важные процессы функционирования растений осуществляются либо микроорганизмами, либо при их непосредственном участии с обоюдной выгодой (Friesen et al., 2011). Микроорганизмы выполняют в почве широкий спектр экосистемных функций и отвечают за трансформацию углерода, азота и других элементов (Аристовская, 1980; Артамонова, Бортникова, 2022а). Азот лимитирует рост растений, процессы азотфиксации, минерализации азотсодержащего органического вещества, усвоения аммонийного азота и окисления аммония осуществляются микроорганизмами и играют заметную роль в балансе азота в почве и питании растений (Андреюк, Валагурова, 1992). Поэтому для восстановления почвенного покрова особенно важно поддерживать естественный ход микробиологических процессов трансформации азота (Kumari, Maiti, 2022; Soil Nitrogen Ecology, 2021). Нарушение протекания биогеохимических циклов элементов оказывает значительное негативное воздействие на экосистему (Kumari, Maiti, 2022;

Subbarao et al., 2015). Микроорганизмы способствуют росту растений в загрязненной почве посредством прямых и косвенных воздействий. К прямым воздействиям относятся солиubilization фосфатов, фиксация азота, синтез сидерофоров для улучшения усвоения Fe. К косвенным воздействиям относятся синтез фитогормонов, органических кислот (щавелевая, яблочная, винная и лимонная кислоты), антибиотиков, биосурфактантов для образования мицелл и проведение окислительно-восстановительных реакций, повышающих биодоступность и снижающих фитотоксичность ТМ в почве (Домрачева и др., 2022; Zhu et al., 2023).

Реакция групп микробных сообществ на различные виды стресса, в том числе на техногенное воздействие может варьировать в зависимости от экологических стратегий и развиваться с различной скоростью (Vlagodatskaya, Kuzyakov, 2013). Под экологической стратегией понимается способ выживания и поддержания популяции в сообществах. Для микроорганизмов выделяют следующие типы экологических стратегий (Грин и др., 1952): R-стратеги приспособлены к росту в неограничивающих условиях среды, у них могут отсутствовать мощные ферментативные системы, однако скорость их роста велика; K-стратеги приспособлены к росту в условиях, когда жизнедеятельность ограничена недостатком ресурсов, такие микроорганизмы имеют более экономичный обмен веществ и мощные ферментативные системы. При этом, как правило, медленно растущие микроорганизмы получают преимущество, когда экосистема находится в стабильном состоянии, тогда как при динамичных изменениях, в том числе, вызванных антропогенным воздействием, более выгодной является R-стратегия, применяемая оппортунистическими видами (Замотаев и др., 2017).

1.4 Растительно-микробные ассоциации в присутствии тяжелых металлов и перспективы их использования в фиторемедиации

Недавние экспериментальные данные показывают, что удаление ТМ из почвы посредством растительно-микробных ассоциаций очень эффективно. Бактерии, стимулирующие рост растений (PGPB), могут существовать как свободноживущие бактерии, в симбиотических ассоциациях (PGPR), так и как эндофиты (эндофитные бактерии, стимулирующие рост растений — PGPEB) (Glick, 2012). PGPB играют важную роль в экосистемах, защищая растения от различных стрессовых факторов, включая высокие концентрации ТМ (рисунок 1). В таких условиях формируются устойчивые растительно-микробные ассоциации, обеспечивающие выживание обоих партнеров (Jing, He, Yang, 2007). Косвенное влияние PGPR на эффективность фиторемедиации связано с их способностью увеличивать биомассу растений, тем самым увеличивая накопление металлов в надземных частях растений. Присутствие ТМ в ризосфере ухудшает усвоение питательных веществ, что приводит к замедлению роста растений (Ouzounidou et al., 2006). Активная секреция различных веществ клетками корней обеспечивает питательными субстратами микроорганизмы, которые образуют прочные ассоциации с корнями – как внутри корневых тканей, так и на поверхности корней (ризоплана), а также в почве, непосредственно окружающей корни (ризосфера) (Артамонова, Бортникова, 2022b). В условиях дефицита питательных веществ PGPR могут обеспечивать растения необходимыми веществами (Luo et al., 2012), фиксируя атмосферный азот (Nonnoi et al., 2012), растворяя труднорастворимые фосфаты (Chen et al., 2006; Rodríguez et al., 2006) и хелатируя Fe^{3+} при помощи сидерофоров (Ma et al., 2011). Многие PGPR способны синтезировать гормоны, такие как индолил-3-уксусная кислота (ИУК), цитокинины и гиббереллины, даже в условиях стресса, вызванного металлами, тем самым влияя на гормональный фон растений и их реакции на стресс (Glick, 2012, 2012). Бактерии, продуцирующие 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатдезаминазу, проявляют универсальный антистрессовый эффект, снижая уровень этилена в растениях. Этилен действует как сигнальная

молекула, запускающая каскады неспецифических стрессовых и адаптивных реакций (Glick et al., 2007; Safronova et al., 2006; Timmusk et al., 2011). Кроме того, ризосферные бактерии стимулируют рост растений, синтезируя гетероциклические антибиотики, такие как пирролнитрин, производные феназина, пиолотеорин и 2,4-диацетилфлороглюцин, или продуцируя цианистый водород, подавляющий фитопатогены (Boro et al., 2022). В совокупности эти свойства PGPR усиливают рост растений в почвах, загрязненных металлами, тем самым способствуя процессу фиторемедиации.

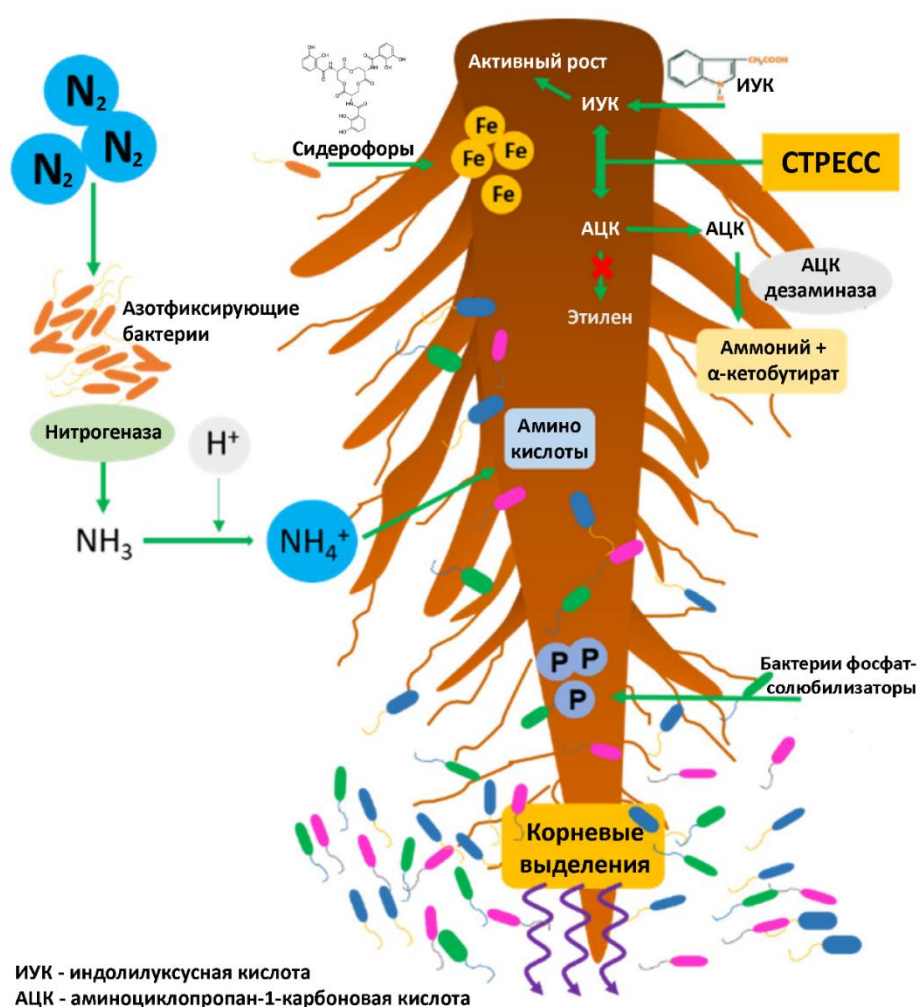


Рисунок 1 – Упрощенная схема основных взаимодействий PGPR с корневой системой растений (адаптировано по (Vocciante et al., 2022))

Исследователи уделяют особое внимание влиянию ТМ на физиологию ризосферных микроорганизмов, стимулирующих рост растений. Белимовым и

др. (2000) продемонстрировано стимулирующее действие 50 мкМ Cd на синтез фитогормона индол-3-уксусной кислоты (ИУК) у устойчивых ризосферных штаммов *Azospirillum lipoferum* 137 и *Arthrobacter mysorens* 7, а также у чувствительного штамма *Flavobacterium sp.* L30 (Belimov, Dietz, 2000).

Штамм *Variovorax boronicumulans* CGMCC 4969, выделенный из ризосферы, метаболизирует индол-3-ацетонитрил в ИУК как через нитрилазо-зависимый путь, так и через нитрилгидратазо-/амидазо-зависимый путь. Со усиливал метаболический поток через нитрилгидратазо-/амидазный путь, в результате чего индол-3-ацетонитрил быстро трансформировался в индол-3-ацетамид, а затем в ИУК (Sun et al., 2018). Было высказано предположение, что *Bacillus subtilis* и Co оптимизируют устойчивость к солевому стрессу у растений кориандра (*Coriandrum sativum* L. cv. Balady). Внесение *B. subtilis* с Co (30 ppm) имело решающее значение для значительного улучшения общих параметров роста. Это улучшение было обусловлено значительным снижением активности ферментов, нейтрализующих активные формы кислорода (супероксиддисмутазы, каталазы и малонового диальдегида), и концентрации пролина на 5%, 11,3%, 14,7% и 13,8% соответственно, при одновременном повышении уровня аскорбиновой кислоты на 8% и поддержании уровня жизненно важных питательных веществ. При этом урожайность семян с растения и выход эфирного масла увеличились на 12,6% и 18,8% соответственно (Brenzi et al., 2024).

В 2010 году полевой эксперимент, проведенный в Университете Пунч-Равакалот (Пакистан), показал, что внесение Co (в рекомендуемой дозировке 10 г Co на гектар) в сочетании с азотом стимулировало рост, образование клубеньков, урожайность и состав семян гороха посевного (*Pisum sativum*) (Akbar et al., 2013). Увеличение продукции гормонов является ответом бактерий на стрессовое воздействие токсичных катионов Cd (Faizan et al., 2021; Haider et al., 2021). Известно, что ТМ в микромолярных концентрациях увеличивают продукцию ряда антибиотиков, подавляющих фитопатогены в ризосферных штаммах. Например, катионы Fe³⁺ стимулируют синтез феназин-

1-карбоксамид в штамме *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 (Chin et al., 2000), Zn стимулирует синтез феназин-1-карбоновой кислоты в штамме *Pseudomonas fluorescens* 2-79, а Co стимулирует синтез пиолотеорина в штамме *Pseudomonas fluorescens* CHA0 (Duffy, Défago, 1999). Однако влияние высоких концентраций ТМ на синтез важнейших метаболитов, участвующих во взаимодействии ризобактерий, стимулирующих рост растений (PGPR), фитопатогенов и растений, остается малоизученным.

1.5 Влияние микроорганизмов на поглощение тяжелых металлов в процессе фиторемедиации

Бактерии, стимулирующие рост растений (PGPR), могут напрямую влиять на фиторемедиацию ТМ. В почве большинство металлов находятся в связанном состоянии, часто в форме труднорастворимых фосфатов. Бактерии, способные растворять фосфаты, повышают биодоступность металлов для растений. Например, было обнаружено, что штамм *Bacillus subtilis* SJ-101 при инокуляции горчицы сарептской (*B. juncea*) стимулирует поглощение никеля (Ni) растениями (Zaidi et al., 2006). PGPR продуцируют органические кислоты, такие как глюконовая, щавелевая и лимонная, которые повышают растворимость комплексов ТМ (Ullah et al., 2015). Среди них лимонная кислота является наиболее распространенной карбоновой кислотой в растениях и действует как связующий агент, способствующий гипераккумуляции Ni (van der Ent et al., 2017). Кроме того, сидерофоры (Gadd, 2010; Jing et al., 2007) и биосурфактанты (Gadd, 2010), продуцируемые PGPR, могут связывать металлы, дополнительно увеличивая их биодоступность для растений.

Микробно-растительные ассоциации были широко изучены на растениях-гипераккумуляторах Ni. В экспериментах по фиторемедиации сельскохозяйственных и горнодобывающих почв, загрязненных ТМ, штамм *Rhodococcus qingshengii*, который синтезирует фитогормон абсцизовую кислоту, использовался для инокуляции гипераккумулятора *Sedum alfredii*

Hance. Инокулированные растения, выращенные на почвах сельскохозяйственных и горнодобывающих регионов, накапливали на 49% и 46% больше Ni в своих надземных частях по сравнению с неинокулированными растениями, соответственно (Du et al., 2022). Аналогичным образом, инокуляция *Brassica juncea* и *B. oxyrrhina* штаммами *Psychrobacter sp.* SRA1 и *Bacillus cereus* SRA10, мобилизующими Ni, напрямую повышала эффективность фитоэкстракции за счет повышения биодоступности Ni и его накопления в тканях растений. Штамм *Psychrobacter sp.* SRA2 косвенно улучшал фитоэкстракцию посредством таких механизмов, как активность АЦК-дезаминазы, продукция ИУК и растворение фосфата, что в совокупности способствовало росту растений (Ma et al., 2009).

Устойчивые к Ni эндофитные штаммы, такие как *Arthrobacter sp.*, *Kocuria rhizophila*, *Bacillus sp.*, *Microbacterium oxydans* и *Bacillus amyloliquefaciens*, были выделены из корней растения-гипераккумулятора *Noccaea caerulescens*, произрастающего на серпентинитовых почвах. Инокуляция *N. caerulescens* отдельными штаммами, как правило, оказалась неэффективной для повышения транслокации Ni или стимуляции роста растений в серпентинитовой почве. Однако штаммы *Arthrobacter sp.* Ncr-1 и *Microbacterium oxydans* Ncr-8 продемонстрировали высокий уровень продукции ИУК и активности АЦК-дезаминазы. Совместная инокуляция штаммами Ncr-1 и Ncr-8 продемонстрировала превосходную эффективность в стимуляции роста растений, извлечения Ni из почвы и облегчении его транслокации вместе с железом (Fe), кобальтом (Co) и медью (Cu) (Visioli et al., 2015).

Среди бобовых растений *Vigna radiata* характеризуется высокой устойчивостью к ТМ и способностью их накапливать (Jabeen et al., 2016; Mahawar et al., 2021). Металлоустойчивые бактерии, стимулирующие рост растений (PGPR), *Bacillus pumilus* MB246, *Serratia nematodiphila* MB307 и *Delftia lacustris* MB322 были использованы для инокуляции растений *V. radiata* NM-II, выращенных на почве, загрязненной Pb, Ni и Cr в

концентрациях 300, 200 и 100 мг/кг соответственно. Бактерии стимулировали рост и фитоекстракционную способность *V. radiata*, хотя большая часть металлов накапливалась в корнях, а их транспорт в надземную часть был ограничен. Было показано, что *V. radiata* действует как нейтрализатор Ni и Pb и умеренно накапливает Cr (Zulfiqar et al., 2022).

Был исследован фиторемедиационный потенциал резистентных бактерий, обладающих системами экспорта ТМ. Ризосферный штамм *Variovorax boronicumulans* CGMCC 4969 метаболизирует индол-3-ацетонитрил в индол-3-уксусную кислоту (ИУК) посредством нитрилазозависимого, нитрилгидратазозависимого и амидазозависимого путей. Воздействие Co усилило метаболический поток через нитрилгидратазно-амидазный путь, что привело к быстрому превращению индол-3-ацетонитрила в индол-3-ацетамид, а затем в ИУК (Sun et al., 2018).

Штаммы PGPR, способные к деградации смеси имидаклоприда и карбендазима, а именно *Bacillus cereus* Disha A и *Bacillus safensis* Disha B, были выделены из сельскохозяйственной почвы. Эти штаммы продемонстрировали устойчивость к ТМ (Pb, Mo, Cd, Co, Zn) и антибиотикам (Roy et al., 2022). Был получен ризосферный штамм PGPR *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391, несущий плазмиды pBS216 и pBS501; Оперон nah плазмиды pBS216 способствует биodeградации нафталина, а оперон snr плазмиды pBS501 обеспечивает устойчивость к Co и Ni, вытесняя катионы ТМ из клеток (Siunova et al., 2007).

На примере эндофитного штамма *Burkholderia cepacia* L.S.2.4::ncc-nre в качестве модельной системы было показано, что его введение в корневую систему люпина увеличивало накопление Ni в корнях на 30% по сравнению с чувствительным вариантом, но не влияло на накопление Ni в листьях и не стимулировало рост растений (Lodewyckx et al., 2001). В экспериментах, имитирующих загрязнение никелем (235 мг/кг субстрата), изучался фиторемедиационный потенциал инокуляции ячменя ризосферным штаммом *Pseudomonas aureofaciens* BS1393(pBS501), обладающим snr-подобным

опероном, обеспечивающим устойчивость к Ni/Co. Результаты показали, что этот штамм увеличивал биомассу на 40% и вдвое снижал накопление Ni в растениях по сравнению с чувствительным вариантом *P. aureofaciens* BS1393. В экспериментах с *P. aureofaciens* BS1393(pBS501) концентрация Ni в корнях (108 мг Ni/кг сухой массы) была в три раза ниже, чем в экспериментах с *P. aureofaciens* BS1393 (330 мг Ni/кг сухой массы). Однако содержание Ni в надземной части было сопоставимым при обоих вариантах инокуляции (80–100 мг Ni/кг сухой массы) (Bashkin, Galiulina, 2022; Macedo et al., 2020).

Штаммы *Bacillus cereus* и *Pseudomonas sp.* PGPR при внесении в пшеницу, выращиваемую на засоленной почве, увеличивали транслокацию Cd, Co, Ni и Pb из почвы в растения. Однако концентрация этих элементов в листьях была ниже, чем в корнях. После бактериальной обработки также наблюдались более высокая всхожесть семян, увеличение высоты и количества побегов, увеличение площади листьев и повышение содержания хлорофилла (Hassan et al., 2017). Интересно, что предварительная инокуляция почвы археей NRS_31 (OL912833) рода *Haloferax* в тепличном эксперименте значительно снизила поглощение Co растениями кукурузы и снизила его токсичность (начальная концентрация Co: 0,2 г/кг почвы). Этот эффект подтверждался менее стрессовыми значениями ряда биохимических параметров, включая близкий к норме фотосинтез и снижение окислительного стресса. В присутствии археи растения усиливали синтез лигандов, связывающих ТМ (металлотионеинов, фитохелатинов), и глутатион-S-трансферазы (Selim et al., 2022). Четыре изолята PGPR — KSBTS 12, SBTS 12, *Bacillus subtilis* CWTS 5 и *Bacillus albus* CWTS 10 — улучшили рост черного маша (*Vigna mungo* L.), содержание хлорофилла в листьях и ряд почвенных параметров в модельном эксперименте, проведенном с почвой, содержащей 2000 ppm Co (Chandwani, Amaresan, 2023). Аналогичным образом, инокуляция эндофитными бактериями *Serratia marcescens* W2 и *Enterobacter cloacoea* W7 в условиях загрязнения Co (25 мг/л CoCl₂ в жидкой среде) улучшила биометрические параметры, такие как длина корней и побегов у растений

томата (*Solanum lycopersicum*) в тесте *in vitro* в чашках Петри (Amjad et al., 2023).

Интерес к металлоустойчивым ризобактериям значительно возрос в связи с тем, что эти микроорганизмы способны не только эффективно колонизировать корневые системы растений, но и регулировать поступление ТМ в растения, увеличивая или уменьшая их накопление в тканях растений (Белимов и др., 2004). Растительно-микробные взаимодействия структурно, функционально и эволюционно сложны и чрезвычайно разнообразны. Схема, предложенная Башкиным и Галиулиной (2022), объясняет направленность микробного влияния на изменение подвижности и накопления ТМ растениями в зависимости от содержания металлов в почве и их доступности для растений (рисунок 2). Согласно этой схеме, в условиях слабого загрязнения, когда защитные механизмы у растений и микроорганизмов еще не индуцированы, могут преобладать микробные процессы, мобилизующие металлы. Эти процессы включают активный микробный метаболизм, приводящий к подкислению среды и растворению металлоорганических комплексов в почве. Одновременно растения выделяют в ризосферу металлхелатирующие вещества, что способствует накоплению ТМ. При повышении концентрации ТМ в почве растения первыми активируют защитные механизмы. Они выделяют в ризосферу органические кислоты и другие хелатирующие вещества для мобилизации ТМ. Микроорганизмы могут использовать эти корневые экссудаты для стимуляции поглощения ТМ корнями, что потенциально может противодействовать защитным реакциям растений и привести к подавлению их роста. При очень высоких концентрациях ТМ защитные механизмы активируются и у микроорганизмов (Bashkin, Galiulina, 2022). В этом случае в ризосфере преобладают процессы микробной иммобилизации, что может объяснять наблюдаемое снижение содержания ТМ в растениях во время экспериментов по фиторемедиации (Aliyari Rad et al., 2023; Chauhan et al., 2024).

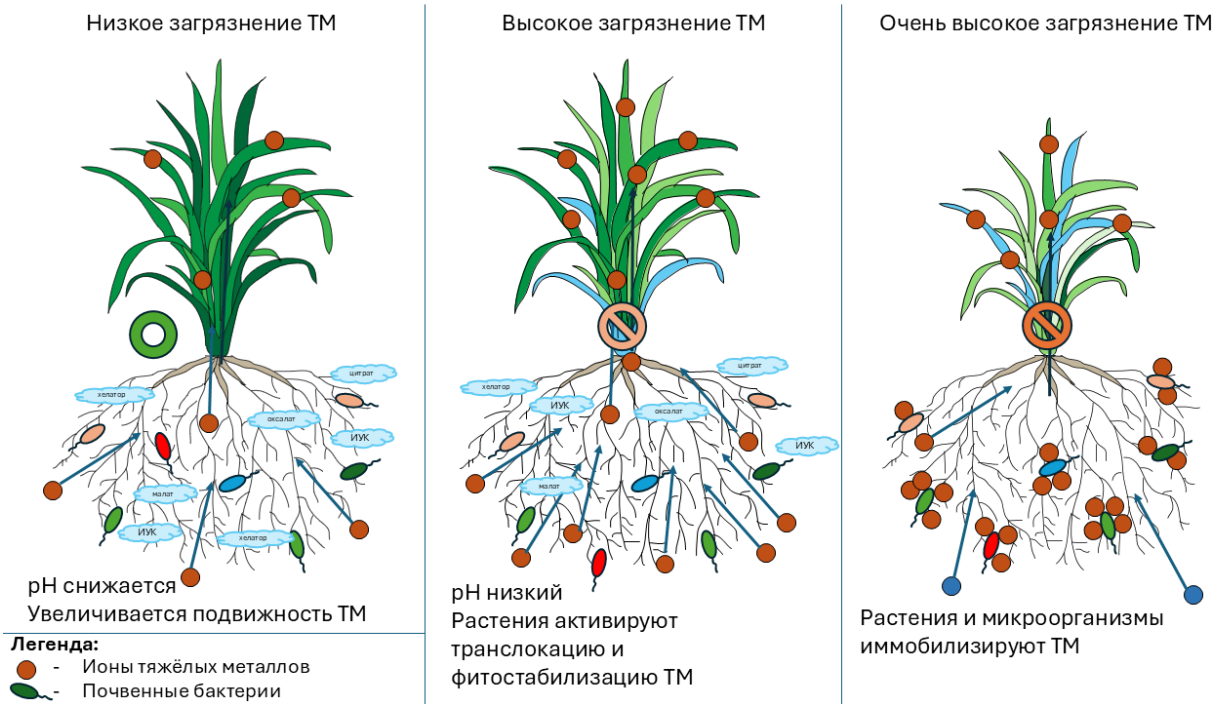


Рисунок 2 – Взаимодействие растений и микробов в условиях различного уровня загрязнения ТМ (адаптировано по (Siunova et al., 2025))

Использование микроорганизмов, связанных с растениями, представляет собой инновационный и многообещающий подход, поскольку почвенные микроорганизмы имеют решающее значение для функционирования экосистемы; они вносят значительный вклад в плодородие почвы, ее функциональность и биоразнообразие (Gulzar, Mazumder, 2022; Kidd et al., 2018).

1.6 Проблемы оценки эффективности биологических агентов индуцированной ремедиации

В настоящее время накоплено достаточно много исследований, фокусирующихся на изучении фиторемедиации с применением микроорганизмов (биоремедиации). Однако, их результаты сильно варьируют, так как на эффективность данного процесса влияют выбор штамма, вида растения, а также физико-химические свойства почвы и т.д. (Awa, Nadibarata, 2020; Wu et al., 2022a). Имеющиеся обзоры по теме охватывают значительный промежуток времени, цитируя публикации даже 1980-х годов. В большинстве

обзоров представляются успешные случаи применения фиторемедиации и не описываются сопутствующие им сложности и отрицательные результаты, что не позволяет дать полноценную оценку применяемым методам фиторемедиации (Arantza et al., 2022; Gavrilesco, 2022; Guo et al., 2021; Montreemuk et al., 2024; Sharma, 2021). Один из способов количественно и объективно сравнить большое количество данных от разных авторов – это проведение метаанализа. Имеющиеся метаанализы посвящены накоплению ТМ растениями, без внесения микроорганизмов или концентрируются на узкой группе эндофитов (Franco-Franklin et al., 2021; Rho et al., 2018).

Наблюдаемые в литературе разнообразные эффекты ТМ на эффективность фиторемедиации связаны с разнообразием возможных анионов и степеней окисления металлов. В литературе значительные различия часто обнаруживают для Cr, который имеет пять степеней окисления, две из которых встречаются в почвенных условиях: Cr(III) и Cr(VI) (Pasricha et al., 2021). Было показано, что Cr(III) менее токсичен и использует апопластный путь для проникновения в корень, в то время как Cr(VI) использует симпластный путь, восстанавливается до Cr(III) и преимущественно накапливается в коре корня (Peralta-Videa et al., 2009). Показано, что различные PGPR способны смягчать стресс через прямые (продукция сидерофоров, иммобилизующих Cr, органических кислот, антиоксидантная активность микробных клеток) и косвенные пути (продукция фитогормонов, аммиака, повышенная доступность Fe, модуляция экспрессии генов). Это приводит к увеличению накопления Cr в корнях и снижению его переноса в побеги (Tirry et al., 2021). Также показано, что даже родственные растения имеют существенно разные реакции на один и тот же поллютант, способность к гипераккумуляции или иммобилизации в корковых клетках корня и т.д. (Pasricha et al., 2021).

ГЛАВА 2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты исследования

В качестве объектов исследования для изучения состава микробного сообщества техногенно нарушенных почв углеотвалов Восточного Донбасса были выбраны почвы зоны влияния породных углеотвалов шахт «Аютинская» и «Майская».

Угледобывающее предприятие шахта «Аютинская» (бывшая шахта «Аютинская» № 13) была организована в 1943 году угледобыча на шахте была остановлена в июле 2006 года из-за аварийного затопления грунтовыми водами. Шахта расположена на северном крыле Грушевско-Несветаевской синклинали в поселке Аюта, который территориально относится к административному округу города Шахты Ростовской области в 10 км на северо-запад непосредственно от черты города.

Основной фон почвенного покрова составляют черноземы обыкновенные карбонатные малогумусные и слабогумусированные мощные и среднемощные на лессовидных тяжелых суглинках и глинах (Безуглова, Хырхырова, 2008). Согласно проведенным макроморфологическим исследованиям, осуществленным в полевых условиях, диагностирован неоднородный характер почвенной массы. Исследуемые почвы в результате длительного воздействия породного отвала угледобычи представляют модификации техногенно нарушенных почв, поскольку верхние слои имеют ясно выраженные особенности техногенно нарушенных почв и загрязнены ТМ, частицами угольной пыли и растворимыми солями (Sokolov et al., 2021). Рекогносцировочные исследования показали, что доминирующими загрязняющими веществами в этих почвах являются Cu, Ni, Zn, Cd и Pb (Pulikova et al., 2024). Почвы зоны влияния классифицируются, как чернозем обыкновенный карбонатный техногенно-нарушенный (Haplic Chernozems Technic по WRB, 2022), хемозем (Spolic Technosols Toxic) и на склоне пелозем типичный. Местоположение площадок отбора показано на рисунке 3.

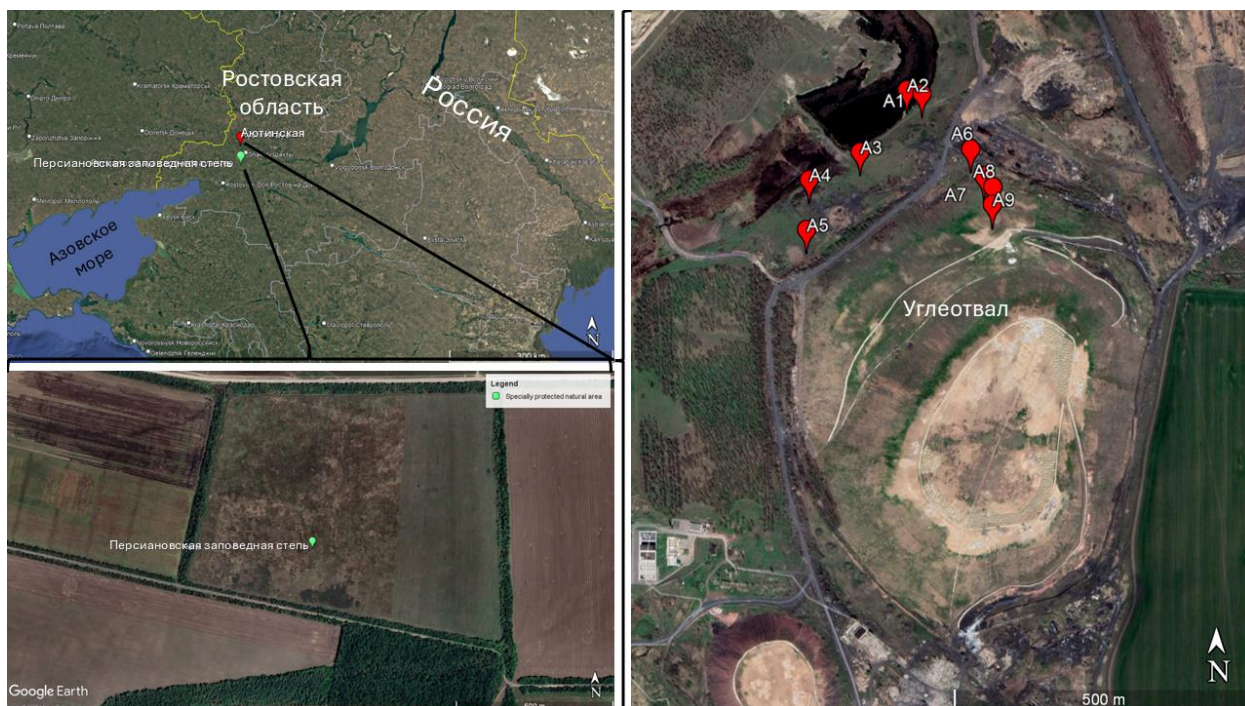


Рисунок 3 – Местоположение объектов исследования и площадок отбора проб изучаемого угольного отвала «Аютинская»

Угледобывающее предприятие шахта «Майская» (бывшая шахта «Аютинская-Южная» и «Южная-2») была организована в 1954 году. Расположена на южном крыле Грушевско-Несветаевской синклинали в 10 км к западу от г. Шахты Ростовской области. Угледобыча на шахте была остановлена в 2002 году. На данный момент подземные сооружения затоплены. Породный углеотвал расположен около закрытого ствола шахты и его отсыпка прекращена, в настоящее время идет его разработка для нужд дорожного строительства (GPS: 47°41'49.07"N 40° 4'55.63"E). В связи с этим, внутренние массы отвала оголены, подвергаются водной и ветровой эрозии, что способствует загрязнению окружающей территории (Замулина и др., 2024). Почвы зоны влияния классифицируются, как чернозем обыкновенный карбонатный техногенно-нарушенный (Haplic Chernozems Technic по WRB, 2022). Местоположение террикона и точек отбора образцов показаны на рисунке 4.



Рисунок 4 – Местоположение объектов исследования и площадок отбора проб изучаемого угольного отвала «Майская»

В качестве фоновой незагрязненной почвы исследована ненарушенная почва особо охраняемой природной территории (ООПТ) «Персиановская заповедная степь» (координаты GPS: 47°30'16.33" с.ш., 40°09'32.26" в.д.). Она классифицирована как чернозем обыкновенный карбонатный тяжелосуглинистый (Haplic Chernozem по WRB, 2022; чернозем миграционно-сегрегационный по Классификации почв России, 2004), находится вдали от возможных источников загрязнения на расстоянии в 22 и 33 км от исследуемых породных углеотвалов шахты «Майская» и «Аютинская» соответственно. Фоновые почвы и загрязненные почвы расположены в одной Южно-Европейской теплой провинции и относятся к одной фации теплых кратковременно промерзающих (Безуглова, Хырхырова, 2008). Морфологическое описание профиля фонового чернозема приведено в таблице 22 приложения А.

2.2 Методы исследования

Проведение метаанализа

Для выработки оптимального дизайна эксперимента и подбора микроорганизмов, повышающих эффективность фиторемедиации ТМ, был проведен метаанализ. Данный вид статистической обработки первичных данных позволяет количественно и объективно сравнивать данные от различных авторов. База данных Scopus содержит 14 392 тематических научных статей, опубликованных в период с 1993 года по 1 августа 2023 года. Для набора базы данных для анализа проводился поиск по следующим ключевым словам: "phytoremediation", "bioremediation", "bioaccumulation", "soil remediation", "phytoextraction", "translocation", "hyperaccumulation", "bioavailability", "remediation", "extraction", "phytostabilization", "pollution tolerance", "heavy metal removal", "hyperaccumulator", "translocation factor", "accumulation", "heavy metals", "bacterial strains", "fungi strains" и "mycorrhiza". Статьи были отфильтрованы по типу, чтобы включить только исследовательские статьи. На рисунке 5 показан процесс выбора статей, их исключения и причины исключения с использованием блок-схемы PRISMA (Liberati et al., 2009). Для дальнейшего отбора статей применялись следующие критерии включения:

1. Авторы сообщали средние значения и стандартные отклонения содержания ТМ в корнях, стеблях или листьях растений;
2. Исследование должно было проводиться в почве, а не в искусственных средах или гидропонных условиях;
3. Исследование должно было быть опубликовано в виде полных научных статей в рецензируемых журналах («серая литература» не рассматривалась);
4. Исследования должны были включать данные об уровне рН почвы и содержании органического углерода (C_{org}).

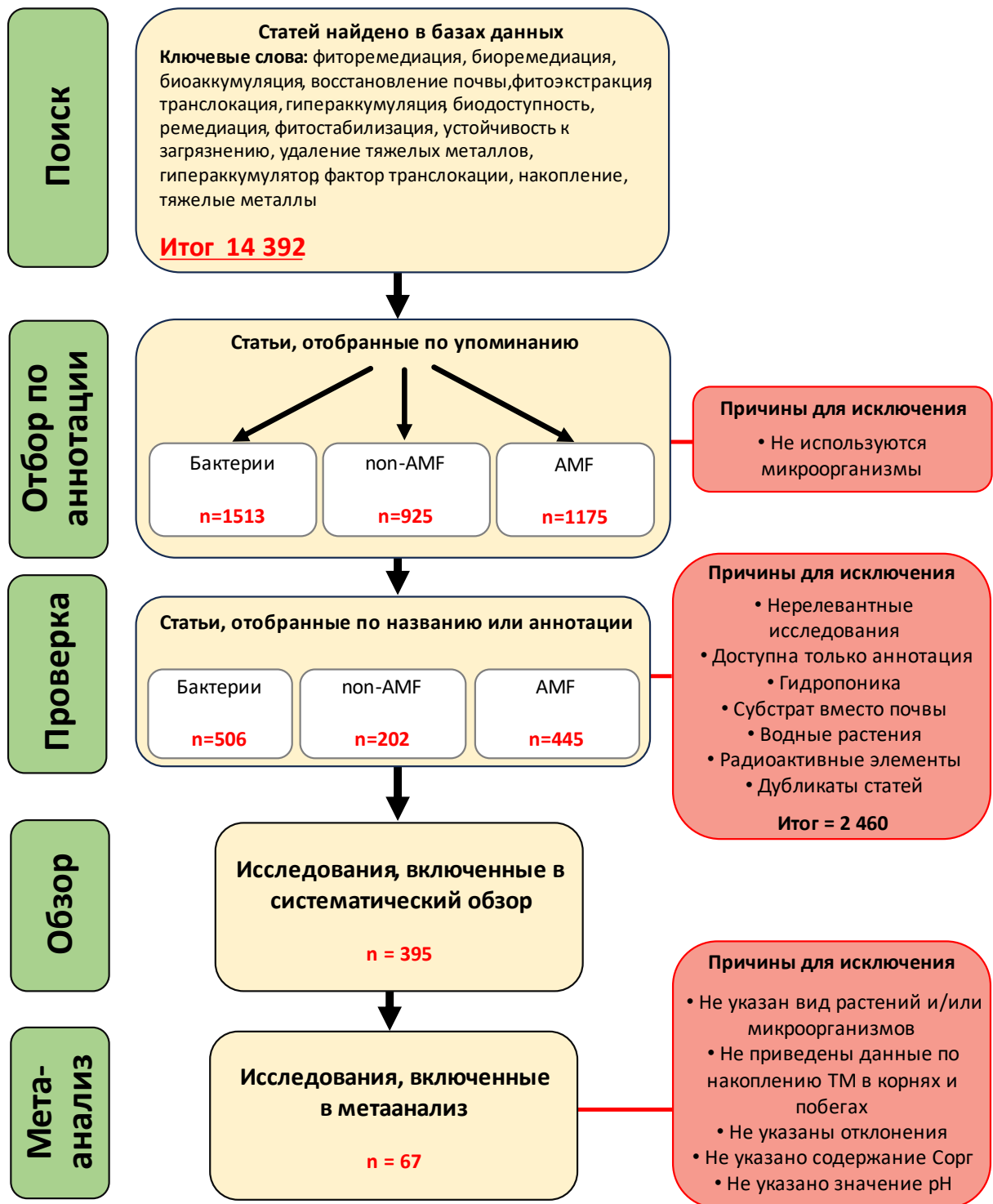


Рисунок 5 – Схема PRISMA, показывающая выбор исследований, подходящих для метаанализа

Каждая комбинация штамма микроорганизмов, вида растения и металла рассматривалась как отдельный набор данных для анализа в этом исследовании. Статьи по накоплению радиоактивных элементов, разложению

загрязняющих органических веществ, экспериментам *in vitro*, исследованиям гидропоники и статьи с методологическими ошибками или отсутствующими данными были исключены из анализа.

Общий систематический анализ включал 395 статей, тогда как метаанализ был сосредоточен на 67 исследованиях, которые предоставили информацию о концентрациях ТМ в побегах и корнях растений (средние значения и значения стандартной ошибки) как в контрольной (неинокулированной), так и в экспериментальной (инокулированной микроорганизмами) группах. Также регистрировались виды растений и химические свойства почвы (Corg и pH соответственно) (рисунок 5).

Почвы можно группировать по их значению pH: от 6,5 до 7,5 — нейтральные; более 7,5 — щелочные; менее 6,5 — слабокислые; и почвы с pH менее 5,5 считаются кислыми. В зависимости от содержания Corg (%): 0-1 низкое, 1-3 — среднее, 3-13 — высокое.

Микроорганизмы были разделены на три основные группы: грибы арбускулярной микоризы (AMF), бактерии и неарбускулярные грибы (non-AMF).

Для расчета размера эффекта данных использовалось программное обеспечение Comprehensive Meta Analysis 3.0 (Biostat, USA). Для анализа данных была реализована модель смешанного эффекта. Были рассчитаны средние значения, стандартные ошибки (SE), дисперсия, количество повторов и другие статистические показатели гетерогенности (p-value, I-squared). Основные результаты представлялись графически в виде «форест» диаграмм (forest plot).

Отбор почвенных образцов

Отбор почвенных образцов выполнялся по стандартным методикам, согласно ГОСТ 28168-89 и ГОСТ 17.4.4.02-2017.

Определение основных физико-химических свойств почв

При определении гранулометрического состава образцы подготавливались пирофосфатный способ (метод Долгова-Личмановой), при дальнейшем определении ГМС методом пипетирования по А.А. Качинскому (Морозов, Безуглова, 2011). Определение содержания органического углерода проводили методом И.В. Тюрина с титриметрическим окончанием, согласно ISO 14235.

Измерение pH, а также сухого остатка было проведено с использованием потенциометрического метода при соотношении почва:вода 1:2,5 согласно ГОСТ 26423–85. Настройка электрода проводилась по трем стандартным растворам с pH 4,01; 6,80 и 9,18. Определение содержания карбонатов проводили газовольтометрическим методом, обменные катионы кальция и магния определяли по методу Гиссинга в модификации И. В. Тюрина (Минеев и др., 2001). Емкость катионного обмена (ЕКО) определяли по методу Бобко — Аскинази в модификации Алешина (Воробьева, 2006).

Определение содержания тяжелых металлов в почве и растениях

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). Количественный анализ проведен в автоматическом режиме с использованием ПО «Квант». Определены содержания Cr, Mn, Ni, Cu, Zn, As, Pb и Cd. Градуировка прибора и контроль качества выполнены по результатам измерения государственных стандартных образцов состава почв (чернозема типичного, красноземной почвы, серозема карбонатного, дерново-подзолистой почвы). Контроль качества проводился путем оценки погрешности с использованием стандартного образца согласно (ПНД Ф 16.1.42-04, 2010).

Подвижная форма ТМ экстрагирована 1 н ацетатно-аммонийным буфером (ААБ) с pH 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 et al., 2020).

Расчет акропетального коэффициента и коэффициента накопления

Для оценки барьерной функции корней и аккумулирующей способности исследуемых растений рассчитывали акропетальный коэффициент (АК) и коэффициент накопления (КН) (Charlygin et al., 2019). Для расчетов КН использованы результаты определения подвижных соединений ТМ в почве по методу Т.М. Минкиной (Minkina et al., 2008). АК рассчитывали по следующей формуле:

$$AK = Me_{\text{побеги}} / Me_{\text{корни}} \quad (1)$$

где $Me_{\text{побеги}}$ — концентрация ТМ в собранных побегах растений, а $Me_{\text{корни}}$ — концентрация ТМ в собранных корнях растений.

КН рассчитывали по следующей формуле:

$$KH = Me_{\text{корни}} / Me_{\text{почва}} \quad (2)$$

где $Me_{\text{корни}}$ — концентрация ТМ в собранных корнях растений, а $Me_{\text{почва}}$ — концентрация подвижных форм ТМ в почвах.

Расчет суммарного показателя загрязнения почв

Суммарный показатель загрязнения (Z_c) рассчитывали по следующей формуле:

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

где K_c - коэффициент концентрации, равный отношению фактического содержания ТМ в почве к его фоновому значению, а n - количество химических элементов с $K_c > 1$ (Pulikova et al., 2023). В качестве фонового участка использовали ООПТ «Персиановская заповедная степь».

Определение микробиологических показателей

Численность культивируемых микроорганизмов, относящихся к различным трофическим группам, определяли методом посева на плотные питательные среды согласно общепринятой методике (Zuberger, 1994). Для определения численности аммонифицирующих бактерий использовали мясопептонный агар (МПА). Для определения численности бактерий, использующих неорганические соединения азота (прототрофы) и актиномицетов, использовался крахмало-аммиачный агар (КАА, ISP 4) (Методы почвенной микробиологии..., 1991). Численность целлюлозолитических бактерий изучали методом чашечного подсчета на модифицированной среде Гетчинсона с микрокристаллической целлюлозой (Alef, Nannipieri, 1995). Для определения численности плесневых грибов и дрожжей использовалась среда Чапека с добавлением стрептомицина. Учет колоний на среде МПА проводили на 1, 5 и 7 сутки, на КАА и среде Чапека – на 5–7 сутки от посева. Чашки Петри с посевами инкубировались при температуре 30 градусов. Все анализы проводили в трехкратной повторности.

На основании данных по численности аммонифицирующих и прототрофных бактерий был рассчитан коэффициент минерализации (Кмин), как отношение численности бактерий-аммонификаторов к численности бактерий-прототрофов (Мишустин, 1956; Zinchenko et al., 2021).

С целью оценки доминирующей экологической стратегии (R- или K) определялась доля быстрорастущих микроорганизмов от общего их числа. Для этого был проведен дополнительный учет колоний, выросших на мясопептонном агаре в первые сутки инкубации.

Статистические анализы

Аналитические исследования проводились на свежих образцах в трех повторностях. Для анализа данных использовались пакеты программ Excel и STATISTICA 12. Для определения взаимосвязи между микробиологическими показателями и физико-химическими свойствами почв были рассчитаны коэффициенты корреляции по Спирмену. Для сравнения биологических показателей между контрастными группами площадок был использован U-критерий Манна-Уитни. Для определения влияния хелатирующих агентов на эффективность фиторемедиации использовались одномерный и многомерный дисперсионный анализы (ANOVA и MANOVA). Для выявления значимых различий при $p < 0,05$ использовался апостериорный тест множественного сравнения Тьюки. Различия в содержании поллютантов в почвах в зависимости от местоположения (приуроченности к угольным отвалам различных шахт) оценивались с помощью рангового дисперсионного анализа по тесту Краскела-Уоллиса с последующим сравнением средних рангов для всех групп.

ГЛАВА 3 МЕТОДОЛОГИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Проведение метаанализа влияния микроорганизмов на накопление тяжелых металлов растениями

Одной из основных проблем при использовании микробных биопрепаратов для растений является низкая выживаемость неаборигенных интродуцированных микроорганизмов. Это может быть связано с недостаточной адаптацией добавленного штамма к условиям среды, включая конкуренцию со стороны местного микробного сообщества, которое уже колонизировало корни растений (Philippot et al., 2013). Штаммы часто специфичны для агроклиматических регионов, а не только для культуры растений (Mahmud et al., 2021). Растения также способствуют формированию ассоциации, которая без стрессового давления может не вызывать колонизацию корней добавленными микроорганизмами (“Cry-for-Help Hypothesis” - «гипотеза крика о помощи») (Bakker et al., 2018; Philippot et al., 2013). Это ограничивает использование микроорганизмов для стимуляции роста растений и поглощения ТМ.

Аналитическая характеристика исследуемых в рамках метаанализа публикаций

Наблюдается тенденция к росту числа публикаций по микробно-индуцированной фиторемедиации почв (рисунок 6). Количество статей по этой теме увеличивается с 2004 года, с резким ростом в 2014, 2017 и 2019 годах по сравнению с предыдущим годом. Однако в период 2020-2023 годы число публикаций снижается.

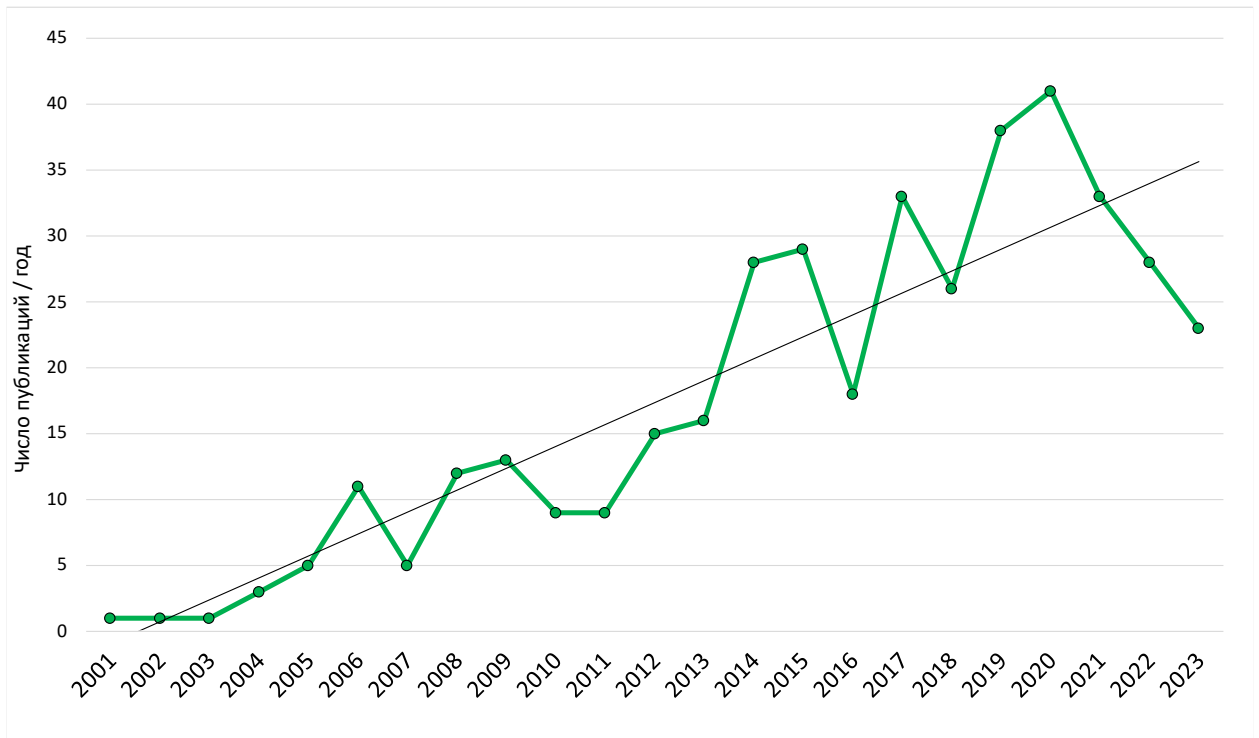
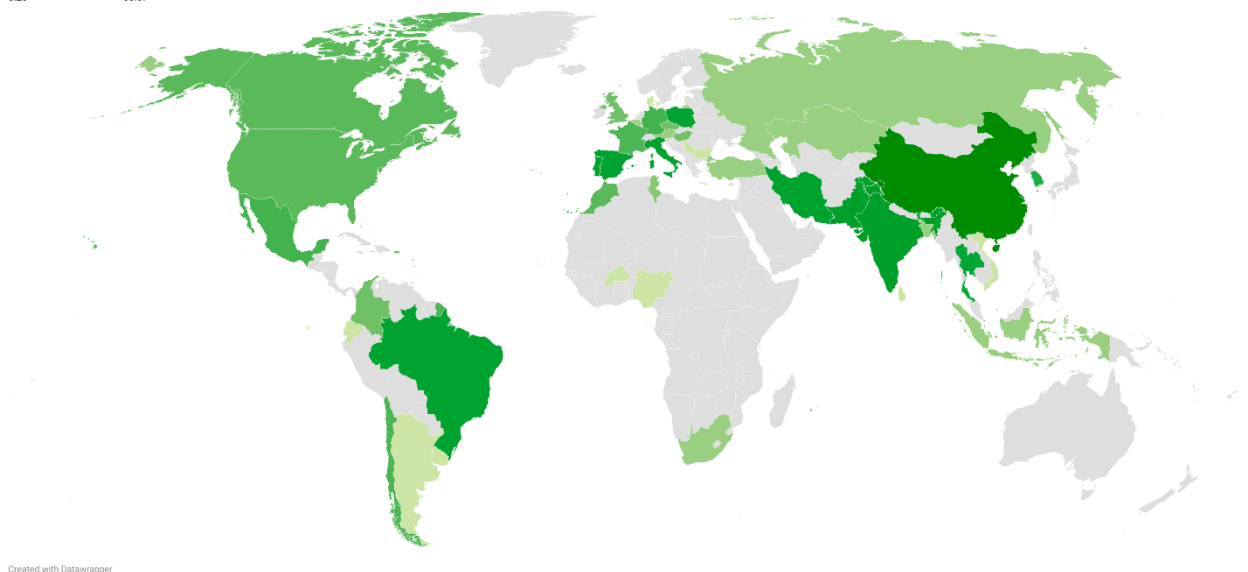


Рисунок 6 – Количество новых публикаций о влиянии микроорганизмов на фиторемедиацию ТМ в почве с 2001 по 2023 гг. (n=395)

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% (рисунок 7).

Вклад страны, %



Created with Datawrapper

Рисунок 7 – Распределение публикаций о влиянии микроорганизмов на фитоэкстракцию ТМ в почвах по странам (n=395)

Исследование включало 16 химических элементов, относящихся к ТМ и металлоидам (рисунок 8). Большинство исследований было посвящено фиторемедиации почв, загрязненных Cd, Pb, Zn и Cu (74,8%). Исследования Hg, опасного элемента, были относительно редки (0,9%). Фиторемедиация почв, загрязненных лантаном и ураном, упоминалась лишь в некоторых редких статьях (0,61%). Cd был наиболее часто изучаемым металлом из-за его острой токсичности при низких концентрациях.

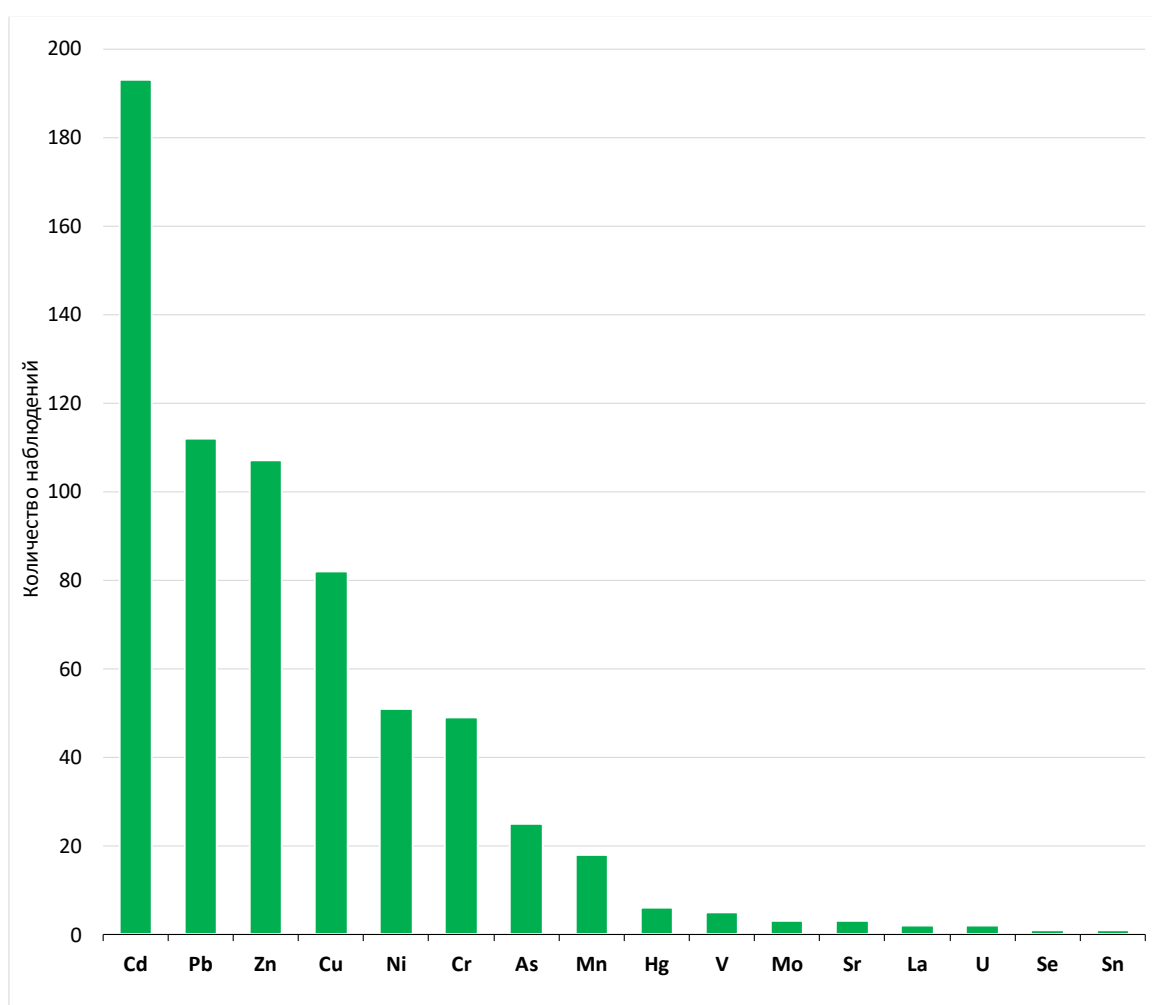


Рисунок 8 – Общее количество наблюдений различных ТМ (n=660) в 329 научных работах

Характеристика размера эффекта

Результаты показывают, что микроорганизмы влияют на накопление ТМ в различных частях растений. Средний эффект в корнях оценивается в $2,28 \pm 0,18$, тогда как эффект в побегах составляет $0,57 \pm 0,21$ (рисунок 9). 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.

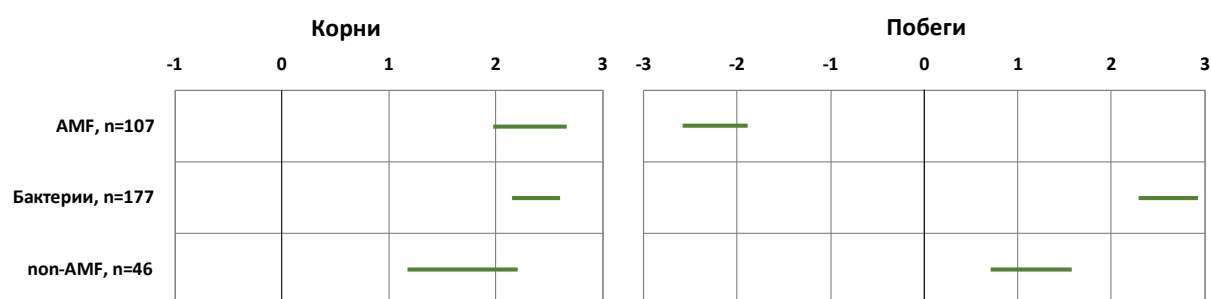


Рисунок 9 – Усредненное влияние микроорганизмов разных групп на поглощение ТМ растениями. n — количество наблюдений

Влияние отдельных родов микроорганизмов на процесс фиторемедиации в нашем исследовании существенно различается (рисунок 10). В целом, эктомикоризные грибы имеют тенденцию к увеличению накопления ТМ в тканях растений. Однако есть исключения для родов *Mucor* и *Amanita*, которые снижают накопление ТМ. Использование *Mucor* оказывает отрицательное влияние на накопление ТМ, оцениваемое в $-2,21 \pm 1,67$ в корнях и $-2,46 \pm 1,37$ в побегах. Использование *Amanita* способствует фитостабилизации, увеличивая накопление ТМ в корнях на $4,72 \pm 2,74$ и снижая их накопление в побегах на $-5,13 \pm 2,23$. *Trichoderma* также оказывает положительное влияние на фиторемедиацию, эффект составляет $5,81 \pm 1,28$ в корнях и $2,06 \pm 1,05$ в побегах. *Mucor* и *Amanita* оказывают противоположное

действие на накопление ТМ в растениях. Добавление *Mucor* (*Mucor sp.* CBRF59) приводит к общему снижению накопления металлов в тканях. Это достигается за счет биотрансформации, биоаккумуляции ТМ в мицелии, в том числе за счет сидерофоров, которые переносят ионы металлов в клетки грибов, предотвращая накопление в растении (Elhamouly et al., 2022; Zahoor et al., 2017). Добавление мухомора (*Amanita muscaria*) способствует фитостабилизации металлов, снижая их транспорт в надземные органы растений. Это происходит за счет синтеза органических соединений, иммобилизующих ионы металлов (щавелевая кислота, меланиноподобные полимеры) (Nandy et al., 2020).

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. Эффект был оценен как $-2,45 \pm 0,5$ для корней и $-1,84 \pm 0,47$ для побегов. Использование *Ralstonia* не оказывает существенного влияния на поглощение ТМ растениями. Мобилизация металлов происходит из-за высвобождения органических кислот, которые могут мобилизовать катионы металлов в почве, что увеличивает их биодоступность (Dhalaria et al., 2020). Для повышения кислотообразования в почву иногда добавляют питательные субстраты: крахмал, сахарозу, глюкозу и NH_4NO_3 (Gramss et al., 2003).

Использование АМФ 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 *Acaulospora* близко к уровню контроля, а влияние часто

используемого *Glomus* обнаружено только для накопления ТМ в корнях (оценено в $3,02 \pm 0,62$). Использование *Paxillus* снижает эффективность перехода ТМ в корень ($-1,17 \pm 0,70$). АМФ в основном усиливают фитостабилизацию за счет увеличения биомассы корней и доступности фосфора в почве, снижения окислительного стресса за счет повышения активности антиоксидантных ферментов (Chaturvedi et al., 2018), трансформации и восстановления ионов ТМ с последующим осаждением на поверхности и в тканях микоризированных корней (Wu et al., 2015), связывания ТМ белком гломалином, продуцируемым АМФ, и секвестрации в мицелии (Chen et al., 2022). ТМ могут транспортироваться через систему поглощения фосфата и железа (Dhalaria et al., 2020).

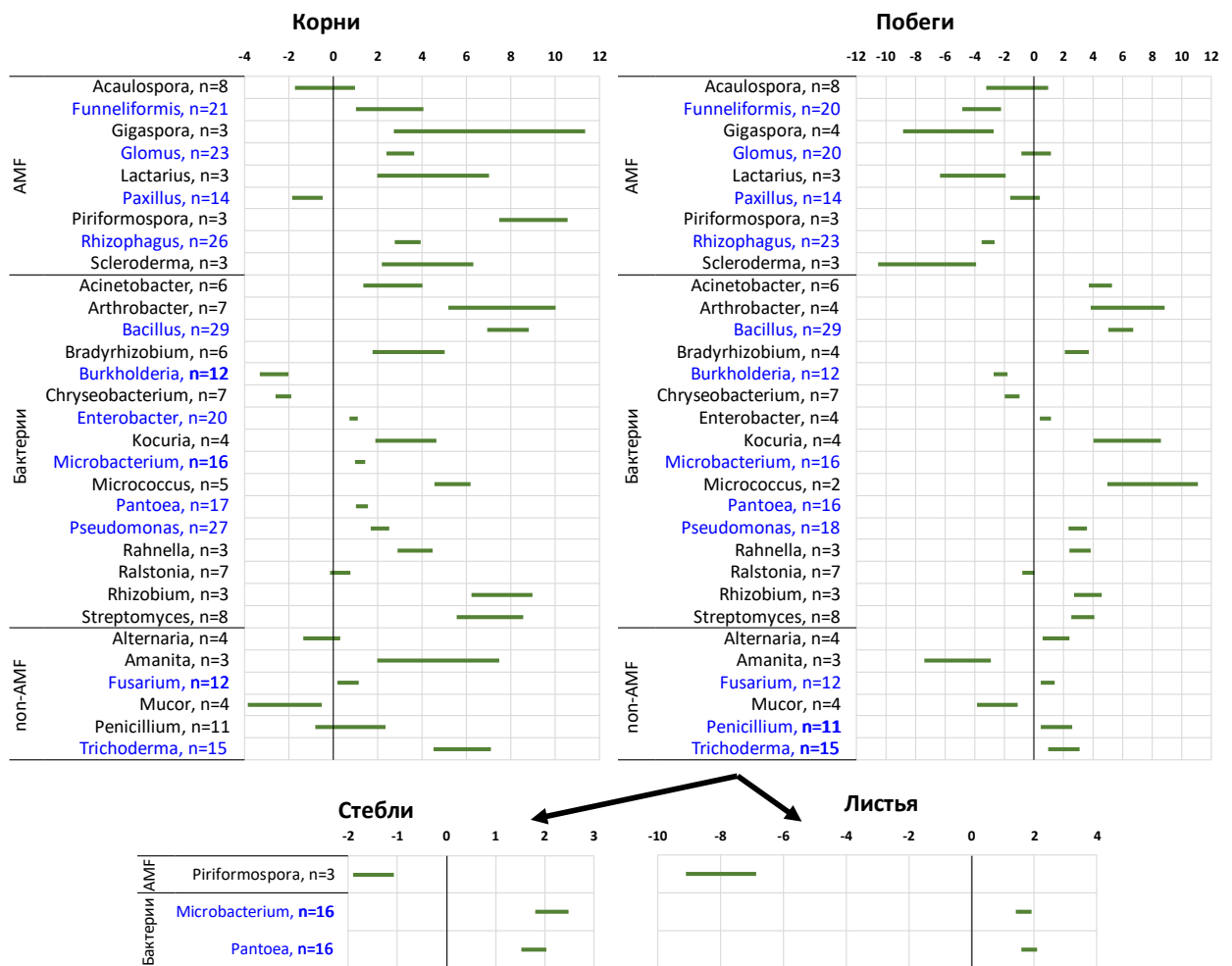


Рисунок 10 – Влияние различных родов микроорганизмов на поглощение ТМ растениями, n – количество наблюдений

Реакция отдельных родов растений на инокуляцию микроорганизмами различается (рисунок 11). В целом, использование микроорганизмов способствует переходу ТМ в ткани растений, особенно в ткани корней. 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 ($5,14 \pm 2,42$). *Enterolobium* не изменяет накопление ТМ в своих частях под влиянием инокуляции.

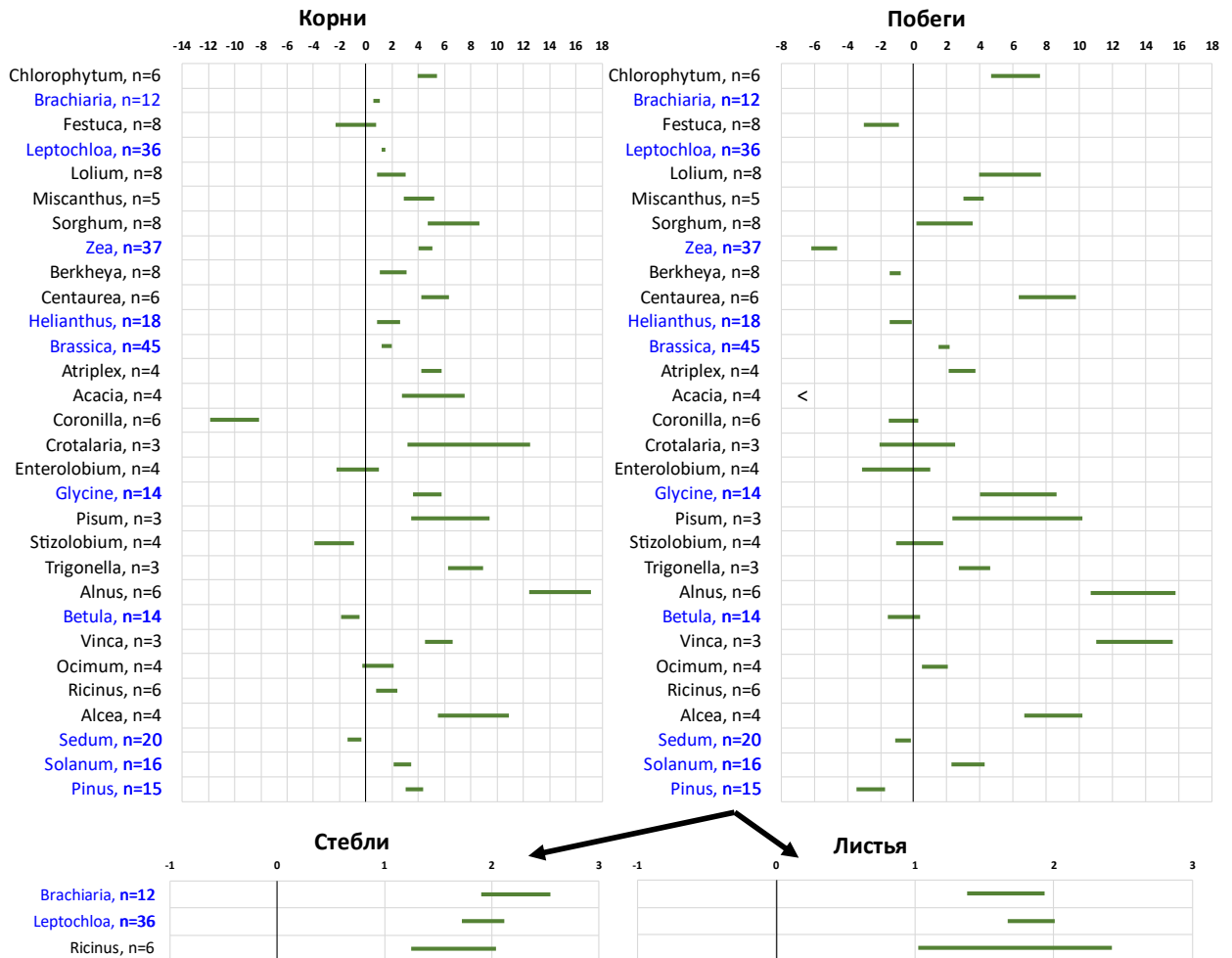


Рисунок 11 – Влияние рода растений на восприимчивость к микробно-индуцированной фиторемедиации, n – количество наблюдений

Растения *Coronilla* под воздействием АМФ и неарбускулярных грибов значительно снижают перенос ТМ в ткани корней ($-10,01 \pm 1,88$), тогда как перенос в побеги не изменился. К сожалению, наблюдаемый эффект может быть оценен недостаточно точно, поскольку все 6 наблюдений, использованных в анализе, относятся к одной и той же статье (Carrasco et al., 2011). В ней оценивалось накопление ТМ в *Coronilla juncea*, инокулированной АМ-грибом *Funneliformis mosseae* или нитчатым грибом *Penicillium aurantiogriseum*. Однако есть и другие исследования, которые не были включены в выборку из-за отсутствия количественных данных, доступных для анализа, но указывают на то, что *Coronilla juncea* может быть хорошим местным кандидатом для фитостабилизации потенциально токсичных элементов (Heckenroth et al., 2022). Таким образом, оценка фиторемедиационных возможностей растений этого рода и влияния инокуляции микроорганизмами остается актуальной для дальнейших исследований.

Выявлено, что применение АМФ может в некоторых случаях немного снизить фитоэкстракционный потенциал растений. Инокуляция *Berkheya* и *Pinus* (*Pinus sylvestris*) увеличила содержание ТМ в корнях и немного снизила содержание в побегах. *Berkheya coddii* является гипераккумулятором и была предложена для фитодобычи на загрязненных территориях (Harris et al., 2009). Отмечено, что внесение АМФ в почву может улучшить выживаемость видов *Acacia* (Ultra, Manuyiwa, 2021), поскольку инокуляция АМФ акации значительно снизила содержание ТМ в двухмесячных побегах. Это может способствовать рекультивации деградированных почв, где рост растений подавляется на начальных стадиях роста (Elhamouly et al., 2022; Nandy et al., 2020).

Хотя фиторемедиационный потенциал растений увеличивается при добавлении бактерий, это особенно перспективно для растений, которые уже известны как эффективные фиторемедианты. Например, *Chlorophytum comosum* обладает высокой толерантностью и накапливает 1000 мг/кг Cd, имеет высокую способность к накоплению (Simek et al., 2018; Wang et al.,

2012). *Miscanthus* является быстрорастущей культурой и используется в процессах преобразования биомассы в биотопливо (Brosse et al., 2012). Эта культура обладает толерантностью к ТМ (Sharmin et al., 2012), что позволяет использовать ее для фиторемедиации почвы (Zhao et al., 2019). *Vinca roseus* рекомендуется для фитоэкстракции почв, загрязненных свинцом, никелем, цинком, кадмием и хромом (Barbosa et al., 2020; Subhashini, Swamy, 2017). Растение *Ricinus communis* используется многими исследователями для фиторемедиации, поскольку оно обладает превосходной способностью извлекать Cd, Pb, Ni, As, Cu (Baudhdh et al., 2015). Инокуляция этих растений бактериями приводит к увеличению накопления ТМ как в корнях, так и в побегах. Несколько исследований демонстрируют фиторемедиационный потенциал растений *Alcea*, *Centaurea* (Duan et al., 2022; Liu et al., 2018; Türkoğlu, Türkoğlu, 2023; Yildirim, Sasmaz, 2017), но накопление ТМ можно усилить путем инокуляции растений бактериями. 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. Кукуруза и подсолнечник являются распространенными сельскохозяйственными культурами (Ranum et al., 2014), поэтому использование микроорганизмов позволит получать более безопасную продукцию. Проблема загрязнения агропочв и накопления ТМ в растениях освещалась в многочисленных исследованиях (Alengebawy et al., 2021; Uchimiya et al., 2020; Yang et al., 2018). В семенах подсолнечника, выращенных на загрязненных почвах, содержание ТМ превышает максимально допустимый уровень (Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on maximum levels for certain contaminants in food and Regulation (EC) No 1881/2006 (Text with EEA relevance), 2023) для Pb в 7,5 раз и почти достигает максимального уровня для Cd (0,4 из 0,5 мг/кг). В зерне кукурузы содержание

Pb превышает максимальный уровень в 6 раз, а Cd — в 5 раз (Bemrah, Ewusi, 2016; Ene et al., 2024).

Некоторые из растений в этом метаанализе активно используются в производстве продуктов питания, поэтому использование биопрепаратов для выращивания растений должно тщательно контролироваться, особенно если существует риск загрязнения сельскохозяйственных почв ТМ (Modgil et al., 2020; Morais Cardoso de et al., 2017). Существует несколько исследований, рекомендуемых представителей перечисленных родов для использования в фиторемедиации. Например, виды *Brassica* (*B. juncea*, *B. oleracea*, *B. carinata* и *B. napus*) характеризуются способностью накапливать большую часть почвенного Cd (Rizwan et al., 2018). Инокуляция *Glycine* (*Glycine max*) бактериями, *Sorghum* (*Sorghum bicolor* × *sudanense*) плесневыми грибами, *Brassica* (*Brassica juncea*, *B. napus*) бактериями и грибами, *Solanum* (*S. nigrum*, *S. lycopersicum*) AMF и бактериями привела к повышенному накоплению ТМ в побегах и корнях растения. Добавление микроорганизмов приводит к снижению накопления ТМ в тканях побегов *Festuca* (*F. arundinacea*, *F. ovina*), которая используется в качестве кормового растения для животных в умеренном климате (Capstaff, Miller, 2018). *Brachiaria* (*B. mutica*) и *Lolium* (*L. multiflorum*, *L. perenne*), которые произрастают в тропическом и умеренном климате, также считаются обычными растениями (Capstaff, Miller, 2018), но при добавлении бактерий происходит стимуляция накопления ТМ в побегах. Использование корма из этих растений может привести к переносу загрязняющих веществ по пищевой цепи. *Trigonella foenum-graecum* (Пажитник) является лекарственным растением, которое выращивается во всем мире, но при участии микроорганизмов он способен накапливать высокие концентрации ТМ в листьях (Fatima et al., 2021). В некоторых исследованиях были обнаружены низкие концентрации ТМ в растениях, растущих на загрязненных почвах (Ugulu et al., 2019), однако микробные добавки могут увеличить накопление загрязняющих веществ. Это обуславливает необходимость тщательного контроля кормов и собираемого лекарственного

сырья, которое может содержать опасные концентрации ТМ не только в зависимости от уровня загрязнения почвы, но и состава ризосферного микробного сообщества.

Подвижность ТМ в почве сильно зависит не только от биотических факторов, но и от ее физико-химических свойств. Поэтому нами было выдвинуто предположение о влиянии содержания Сорг и рН на стимуляцию накопления ТМ в тканях растений микроорганизмами. 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) (рисунок 12). Не было обнаружено прямой связи между микробно-индуцированным накоплением ТМ в корнях растений во время фиторемедиации и уровнем органического вещества в почве. Однако при высоком содержании Сорг в почве добавление микроорганизмов снижало переход ТМ в побеги ($-1,24 \pm 0,36$).

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 $0,68 \pm 0,21$ рН почвы оказался второстепенным фактором, определяющим эффективность микробно-индуцированной фиторемедиации. В целом, индуцированная фитоэкстракция происходит как в кислых, так и в щелочных почвах. Наибольшее влияние было обнаружено для кислых почв ($3,93 \pm 0,75$). Это может быть обусловлено высокой подвижностью большинства ТМ в этом диапазоне рН. При нейтральных значениях рН почвы перенос ТМ в побеги растений уменьшается при добавлении микроорганизмов. В то же время увеличивается накопление ТМ в корнях. В нейтральных почвах достигаются условия достаточной биодоступности различных микроэлементов, необходимых для роста и развития растений. Было показано, что они конкурируют с небактериальными ТМ (например, Cd) за поглощение растениями, и в условиях обеспеченности микроэлементами накопление ТМ в тканях растений уменьшается (Placek et al., 2016; Rizwan et al., 2019).



Рисунок 12 – Влияние содержания Сорго в почве (высокое, низкое, среднее) и рН на эффективность микробно-индуцированной фиторемедиации, n – количество наблюдений

Обнаружено, что 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 $-0,61 \pm 0,57$ до $-7,16 \pm 3,73$). Внесение микроорганизмов не влияет на транспорт As и Cu в побеги. При внесении микроорганизмов в почву более вероятен процесс фитостабилизации. Фитоэкстракция наблюдается в отношении Cd, Ni и Pb (рисунок 13).

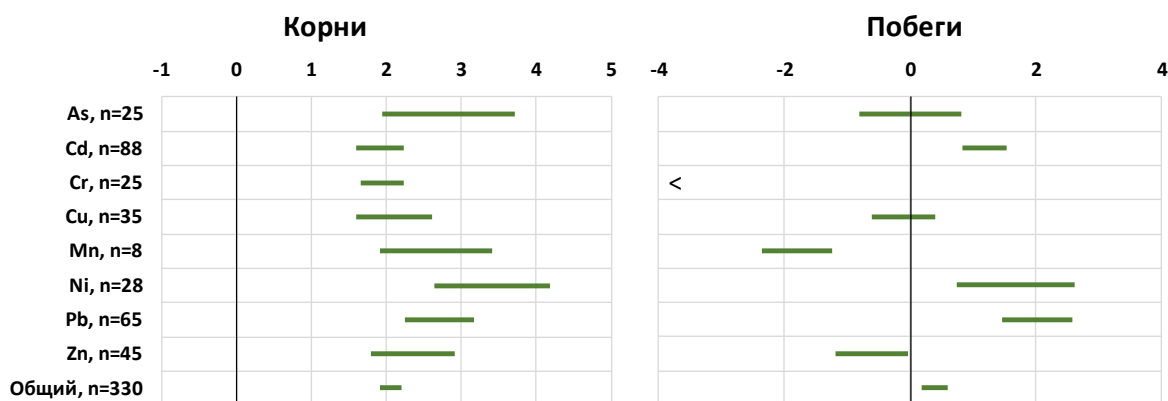


Рисунок 13 – Восприимчивость различных ТМ (оидов) к воздействию микробно-индуцированной фиторемедиации для отдельных элементов, n – количество наблюдений

Разнообразные эффекты ТМ на эффективность фиторемедиации связаны с возможными анионами и степенями окисления металлов, рассматриваемых в метаанализе. Значительные различия в величине эффекта были обнаружены для Cr, который имеет несколько степеней окисления, две из которых встречаются в почвенных условиях: Cr(III) и Cr(VI) (Pasricha et al., 2021).

Анализ влияния внесения микроорганизмов на накопление ТМ при фиторемедиации

Использование различных групп микроорганизмов, включая арбускулярные микоризные грибы (AMF), неарбускулярные грибы и бактерии, существенно влияет на накопление ТМ в растениях в ходе индуцированной фиторемедиации. В частности, было установлено, что AMF способствует накоплению ТМ в корневых системах, а non-AMF грибы и бактерии, особенно *Arthrobacter* и *Bacillus*, *Kocuria* и *Micrococcus* увеличивают накопление ТМ во всех частях растений. Среди non-AMF только *Mucor* и *Amanita*, среди бактерий только *Burkholderia* и *Chryseobacterium* снижали накопление металлов во всех частях растений. Результаты исследования также подтверждают важность подбора растений. Выбор

растений позволит нам добиться желаемого изменения фиторемедиационных свойств, так как не все роды схожим образом реагируют на инокуляцию. Использование растений-фитоэкстракторов *Chlorophytum*, *Miscanthus*, *Vinca*, *Ricinus* совместно с бактериями приведет к повышенному накоплению ТМ во всех частях растений. Было обнаружено, что инокуляция пищевых, кормовых и лекарственных растений, таких как томаты, баклажаны, капуста, рапс, пажитник и т. д. микроорганизмами может увеличить накопление ТМ в побегах, что создаст дополнительный риск при контроле безопасной продукции.

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.

Результаты этого метаанализа подчеркивают потенциал использования микроорганизмов для улучшения процессов фиторемедиации и предоставляют ценную информацию для планирования дальнейших исследований в этой области. Необходимо оптимизировать условия применения микроорганизмов для повышения эффективности ремедиации различных типов почв.

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 и концентраций для фиторемедиации загрязненных почв был проведен модельный эксперимент.

Образец почвы (0-20 см) был отобран у подножия угольного отвала шахты «Аютинская», расположенного в 10 км к западу от города Шахты (координаты GPS: 47°48'08.3" с.ш., 40°08'23.7" в.д.). Исследования (Pulikova et al., 2024; Semenov et al., 2022) показали, что верхний 0-25 см слой является местом наиболее активной иммобилизации металлов, в котором функционируют различные барьеры (биогеохимические, сорбционные, карбонатные) и отвечает требованиям ГОСТ (ГОСТ 17.4.4.02-2017) по отбору проб. Физико-химические свойства использованной почвы представлены в таблице 1.

Таблица 1

Физико-химические свойства хемозема отвала шахты «Аютинская» Восточного Донбасса (площадка А5) и чернозема миграционно-сегрегационного (ООПТ «Персиановская заповедная степь»), слой 0–20 см

Показатель		Чернозем миграционно-сегрегационный (Haplic Chernozems)	Хемозем (Spolic Technosols Toxic)	
C _{орг} , %		3,77±0,29	3,52±0,26	
рН водн,		7,68±0,18	7,3±0,08	
CaCO ₃ , %		0,49±0,01	0,21±0,00	
Плотный остаток, %		0,19±0,04	2,41±0,02	
Песок (1,0-0,05 mm), %		48,21±5,21	65,6±5,94	
Физ. глина (<0,05mm), %		51,79±3,14	34,40±2,25	
Ил (<0,001 mm), %		29,43±2,83	16,8±1,91	
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

В качестве культур-фиторемедиантов использовали многолетние местные травы, толерантные к комплексу неблагоприятных природно-климатических и эдафических условий, создаваемых на терриконах, способные формировать густую дернину, препятствующую развитию процессов водной и ветровой эрозии на поверхности рекультивируемых терриконов. Пырей ползучий (*Elytrigia repens*) обладает высокой способностью к фитостабилизации и формированию дернины, препятствующей развитию процессов эрозии и миграции поллютантов. Кроме того, в ризосфере злаков формируются зрелые гумусовые кислоты (Артамонова, Бортникова, 2022а). *M. sativa* характеризуется, как культура-освоитель, способствующая окультуриванию земель в ходе ремедиации, устойчивая к неблагоприятным условиям роста (Муратова и др., 2010).

2 кг почвы были помещены в горшки, увлажнены, и 20 семян *E. repens* и *M. sativa* были посеяны и прорежены до 15 растений после прорастания. После 2 недель вегетации в почву отдельно добавляли 1, 2, 5 и 10 ммоль/кг динатриевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты (Na-ЭДТА) (HiMedia,

США), лимонной (ТТСА Со., Китай) и щавелевой (HiMedia, США) кислот для активации накопления ТМ растениями. Концентрации и способ внесения хелатирующих агентов выбирали на основе данных из литературы и в соответствии со свойствами почвы (структура суглинистой почвы и слабощелочной рН). Ma et al. использовали супесчаную почву с рН 7,7 и добавляли 10-30 ммоль/кг хелатирующих агентов в своем исследовании (Ma et al., 2020). Diarra et al. использовали суглинистую почву с рН 6,87 и добавляли 10 ммоль/кг хелатирующих агентов (Diarra, Kotra, Prasad, 2021). Hussain et al. использовали слегка суглинистую почву с рН 7,8 и добавляли 5 ммоль/кг лимонной кислоты (Hussain et al., 2019). Turan и Angin использовали суглинистую почву с рН 6,9 и добавляли 2,5-10 ммоль/кг лимонной кислоты (Turan, Angin, 2004).

Растения выращивали в течение 28 дней в контролируемой среде с 14/10-часовым циклом свет-темнота с плотностью потока $300 \text{ мкмоль м}^{-2} \text{ с}^{-1}$, стабильной температурой ($25 \pm 3^\circ\text{C}$) и влажностью воздуха (40-50 %). Содержание влаги в почве поддерживалось на оптимальном уровне 60% от общей полевой влагоемкости. Эксперимент проводили в трехкратной повторности. В конце вегетационного периода были отобраны образцы растений и почвы для определения содержания ТМ и микробиологической активности.

Для изучения способов индуцированной фиторемедиации техногенно нарушенных почв в зоне влияния породных отвалов (терриконов) степной зоны Российской территории Восточного Донбасса путем применения микоризации и внесения комплексообразующих соединений (хелатирующих агентов) заложен модельный вегетационный опыт. Использовался хемозем угольного отвала шахты «Аютинская», как и в предыдущих исследованиях, а в качестве контроля – чернозем миграционно-сегрегационный среднегумусированный карбонатный (ООПТ «Персиановская заповедная степь»), находящейся вдали от возможных источников загрязнения.

Отобранную почву очищали от растительных остатков и других включений, перетирали в фарфоровой ступке. В сосуды помещали по 2 кг почвы, просеянной через сито диаметром ячеек 3 мм. Для повышения фиторемедиационного потенциала растений использовали симбиотические микроорганизмы и хелатообразующий агент отдельно и совместно согласно схеме опыта, таблица 2.

Таблица 2

Схема модельного вегетационного опыта по изучению способов индуцированной фиторемедиации хемозема в зоне влияния породных отвалов

№	Вариант	Сокращенное обозначение
1	Незагрязненная почва близлежащая к углеотвалу – чернозем миграционно-сегрегационный	Чернозем
2	Чернозем с внесенным хелатором (лимонная кислота в дозе 10 ммоль/кг)	Чернозем + хелатор
3	Чернозем с внесенной микоризой (<i>Glomus sp.</i>)	Чернозем + микориза
4	Чернозем с внесенными хелатором и микоризой	Чернозем + хелатор + микориза
5	Хемозем зоны влияния углеотвала	Хемозем
6	Хемозем с внесенным хелатором	Хемозем + хелатор
7	Хемозем с внесенной микоризой	Хемозем + микориза
8	Хемозем с внесенными хелатором и микоризой	Хемозем + хелатор + микориза

В качестве хелатообразующего агента использовали лимонную кислоту в дозе 10 ммоль/кг на основе результатов опыта по выбору дозы и вида хелатора. Раствор вносили под корень спустя 2-х недель после прорастания тест-культур. Для образования микоризного симбиоза с тест-культурами проводили инокуляцию семян грибом *Glomus sp.* посредством припосевного

внесения сухих измельченных микоризованных корней плектрантуса (*Plectranthus australis* L.).

В качестве культур-фиторемедиантов использовали многолетние злаковые и бобовые травы, толерантные к комплексу неблагоприятных природно-климатических и эдафических условий, создаваемых на терриконах, способные формировать густую дернину, препятствующую развитию процессов водной и ветровой эрозии на поверхности рекультивируемых терриконов. Пырей ползучий (*Elytrigia repens*) ГОСТ Р 52325-2005, относящийся к фитостабилизаторам и удерживающий поллютанты в недоступной форме в корнях, и люцерну посевную (*Medicago sativa*) сорта Вега 87, выступающую в качестве фитоэкстрактора, сажали одновременно согласно нормам высева, указанным производителем. Вегетационный опыт проводили в лабораторных условиях при комнатной температуре (25 ± 2 °С) и освещении фотолампой (цикл свет-темнота 16/8 ч). Влажность почвы поддерживали на уровне $60 \pm 2\%$ от полной полевой влагоемкости в течение всего вегетационного периода путем добавления дистиллированной воды (ГОСТ Р ИСО 22030-2009). Во время эксперимента дополнительные удобрения и пестициды не применялись. Срок вегетации составил 65 дней, что соответствует фазе выхода в трубку. После окончания вегетационного опыта, почву в состоянии естественной влажности отбирали для проведения микробиологических исследований. Для аналитических работ по изучению физических и химических свойств почв образцы высушивали до воздушно-сухого состояния.

В качестве индикаторов фитоэкстракции или фитостабилизации ТМ в почве выступали: морфометрические показатели тест-культур, биогеохимические показатели, содержание и распределение ТМ по органам растений.

ГЛАВА 4 ТЕХНОГЕННО ЗАГРЯЗНЕННЫЕ ПОЧВЫ УГЛЕОТВАЛОВ ВОСТОЧНОГО ДОНБАССА И ИХ МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА

4.1 Влияние породных отвалов на накопление тяжелых металлов в почвах

Валовое (общее) содержание ТМ дает представление об уровне потенциальной опасности высоких содержаний металлов для экосистемы и позволяет определять импактные зоны. Однако, при меняющихся физико-химических показателях среды, ТМ могут переходить в подвижные формы (Бакытжанкызы и др., 2025; Водяницкий, 2008; Minkina et al., 2008; Minkina et al., 2018). Физико-химические свойства почв зоны влияния породных углеотвалов представлены в таблице 3.

Для образцов почв породного отвала шахты Аютинская среднее содержание фракции физической глины составляет 44,8%, варьируя от 20 до 58,8%. Преобладают фракции ила (<0.001мм) и крупной пыли (0,01-0,05 мм). Максимальное распространение получили средне- и тяжелосуглинистые разновидности. Для шахты Майская среднее содержание физической глины выше – 47%. Размах минимальных и максимальных значений шире - 14,4-63,2%. В большей степени распространены тяжелосуглинистые разновидности. Наблюдается тенденция утяжеления гранулометрического состава по мере удаления от углеотвалов.

Органический углерод почвы (Сорг) является важным фактором, влияющим на доступность микроэлементов для растений и сорбцию токсичных веществ в почвах. Содержание Сорг в черноземе миграционно-сегрегационном в верхнем горизонте А (0-19 см) составляет 3,36%. В то время, как Сорг для всех исследуемых образцов характеризуется широким разбросом значений - 0,27-8,35%, на некоторых площадках превышая значения целинного чернозема. Такая разница свидетельствует о неоднородности сложения и большом количестве включений обломков угля, что подтверждается морфологическими исследованиями.

Таблица 3

Физические, химические и физико-химические свойства поверхностных слоев почв зоны влияния породных углеотвалов

Площадка	Тип почвы	С _{орг} , %	СаСО ₃ , %	Обменные катионы, смоль(экв)/кг		рН	Сухой остаток, %	Содержание фракций, %	
				Ca ²⁺	Mg ²⁺			<0,001мм	<0,01 мм
Почвы зоны влияния породного углеотвала шахты «Аютинская»									
A1	Чернозем миграционно-сегрегационный техногенно-нарушенный	3,3±0,2	2,0±0,1	34,9±2,1	2,6±0,2	7,3±0,12	0,30±0,02	24,0±2,3	54,8±2,8
A2		3,3±0,2	0,5±0,01	46,9±3,3	9,4±0,6	7,6±0,09	1,40±0,1	23,6±1,8	43,6±3,5
A3		2,7±0,3	0,0	19,9±1,3	6,6±0,3	7,3±0,31	0,0	14,8±1,3	33,6±2,7
A4		4,2±0,2	0,0	22,5±1,8	8,5±0,4	7,5±0,04	1,48±0,09	7,6±0,6	20,0±1,6
A5	Хемозем	3,5±0,1	0,0	48,7±3,7	18,7±1,1	7,3±0,02	0,69±0,05	16,8±1,1	34,4±3,3
A6	Пелозем типичный	1,7±0,1	2,5±0,2	21,3±1,6	5,2±0,3	7,3±0,19	0,02±0,002	22,0±1,6	41,9±3,4
A7		0,3±0,03	3,9±0,1	26,9±2,1	6,6±0,2	7,9±0,22	0,0	32,8±2,9	58,8±4,9
A8		2,3±0,2	4,4±0,2	28,6±2,7	8,2±0,7	7,9±0,07	0,02±0,001	32,4±2,5	58,4±3,1
A9		0,6±0,04	6,8±0,3	26,0±1,9	8,0±0,6	8,3±0,20	0,01±0,001	30,4±2,7	58,0±3,6
Почвы зоны влияния породного углеотвала шахты «Майская»									
M1	Чернозем миграционно-сегрегационный техногенно-нарушенный (Haplic Chernozems Technic)	1,4±0,01	2,2±0,2	35,2±3,4	10,3±0,9	7,3±0,09	0,17±0,002	25,6±2,1	49,6±3,6
M2		1,2±0,02	1,3±0,09	33,8±2,4	6,5±0,4	7,9±0,06	0,47±0,006	26,0±2,2	47,6±4,2
M3		3,3±0,2	0,0	43,1±2,9	3,0±0,2	4,0±0,11	0,83±0,008	22,1±1,6	49,9±2,9
M4		1,4±0,06	3,4±0,3	16,5±1,1	2,8±0,3	8,4±0,23	1,64±0,1	8,0±0,4	14,4±1,1
M5		1,3±0,09	1,8±0,06	27,6±1,7	8,1±0,2	7,7±0,08	0,25±0,003	29,6±1,3	55,2±4,1
M6		3,1±0,3	0,8±0,04	28,3±2,3	1,3±0,1	7,8±0,15	1,40±0,1	22,0±1,6	41,9±2,6
M7		1,3±0,1	2,2±0,1	27,3±1,9	11,5±0,8	7,7±0,26	0,16±0,001	34,0±3,2	48,8±3,3
M8		1,4±0,1	1,5±0,07	29,3±2,1	3,4±0,2	8,2±0,30	0,01±0,001	30,8±2,7	63,2±4,9
M9		1,9±0,08	2,2±0,1	28,4±2,6	2,1±0,1	8,0±0,22	0,12±0,001	18,8±1,1	50,4±3,7

Для шахт Аютинская среднее содержание Сорг составляет 2,46%. Содержание Сорг в черноземах техногенно-нарушенных углеотвала Майский ниже и в среднем составляет 1,77%, однако пространственная вариабельность здесь значительно ниже, размах минимальных и максимальных значений составляет – 1,17–3,3%.

Средние значение рН образцов почв территории углеотвалов имеют слабощелочную и близкую к нейтральной среде 7,18–7,55. Однако пространственная вариабельность высока. Так, для почв углеотвалов шахты Аютинская минимальные и максимальные значения рН – 7,19–8,3, Майская - 4,04–8,37. Низкие значения рН связаны образованием серной кислоты и сульфатов железа при окислении пирита, а также сульфатов алюминия при взаимодействии серной кислоты с первичными минералами (алюмосиликатами) угольных отвалов и их гидролиза (Воробьев и др., 2016; Солнцева, Рубилина, 1987). Общий щелочной фон исследуемых почв обусловлен свойствами почв степной зоны, имеющих щелочную реакцию среды и высокую степень насыщенности ППК основаниями. Черноземы миграционно-сегрегационные и лугово-черноземные почвы обладают высокой степенью буферности против подкисления, где основными механизмами (типами химических реакций по Ульриху и Швертману) являются растворение карбонатов, силикатов и вытеснение протоном обменных оснований из ППК (Соколова и др., 2012).

Разница в содержания карбонатов высока (0,01–6,76%). Максимальные количества приурочены к площадкам, имеющим более высокие значения рН. Снижение содержание карбонатов в угольных отвалах, по-видимому, обусловлено их частичным растворением в сильноокислой среде.

Сумма обменных оснований ($\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$) для всех площадок мониторинга высокая, в среднем составляя 35 смоль(экв)/кг. В составе ППК преобладает Ca^{2+} , что обуславливает благоприятные физические свойства. Для почв углеотвала шахты Аютинская этот показатель принимает значение – 38,6 смоль(экв)/кг, Майская – 35,7 смоль(экв)/кг. При этом ряд почв террикона

Аютинская характеризуется высокими значениями Mg^{2+} в ППК. Соотношение Ca : Mg снижается до 2. Такое соотношение способствует проявлению негативных свойств почв: уменьшаются водопроницаемость и коэффициент фильтрации, образуется почвенная корка, усиливаются диспергирующие свойства натрия. Избыток магния также может оказать негативное влияние на растения. Однако, при содержании существенных количеств $CaCO_3$ влияние магния проявляется слабее (Alperovitch et al., 2006; Norton, Dontsova, 1998; Zhang, Norton, 2002). В то же время магнией, адсорбированный содержащими монтмориллонит почвами, снижает скорость фильтрации и увеличивает эрозию вне зависимости от содержания $CaCO_3$ (Keren, 1991). Проявление негативных свойств почв при повышенном содержании магния может являться следствием уменьшения содержания органического вещества в почвах (Воеводина, Воеводин, 2015).

Содержание легкорастворимых солей в почвах отвалов, максимально на площадках, приближенных к терриконам: для всех образцов почв обнаружено засоление от слабой до сильной степени. Содержание плотного остатка варьирует для углеотвала Аютинский в пределах 0,001–1,48%, Майский – 0,06–1,64%.

Результаты определения валового содержания и подвижных форм ТМ для исследуемых почв представлены в таблице 4, эталонные значения и ОДК/ПДК представлены в таблице 5.

Содержание ТМ (мг/кг) в поверхностных слоях почв обследованных углеотвалов шахт Восточного Донбасса

	Тип почв	Валовое содержание									Подвижные формы							
		Cr	Mn	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb	Zc	Cr	Mn	Ni	Cu	Zn	Cd	Pb	Zc
Фон	Чернозем миграционно-сегрегационный	95,8	823,4	60,4	37,9	64,2	4,1	0,34	27,9	-	8,3	130,4	5,5	3,4	11,7	0,1	2,6	-
A1	Чернозем миграционно-сегрегационный техногенно-нарушенный	101,3	693,8	56,6	36,3	90,8	5,5	2,11	34,7	6	4,8	96,4	5,1	2,3	7,2	0,21	5,6	2
A2		93,5	1183,4	56,4	39,3	114,3	12,8	0,58	43,9	5	2,5	226,8	12,9	1,3	6,8	0,10	10,4	5
A3		106,0	1526,1	141,0	111,8	202,9	6,3	0,30	43,3	7	10,5	283,1	25,8	12,8	36,0	0,07	10,2	13
A4		77,6	499,7	66,0	61,4	71,6	6,6	0,23	39,8	2	16,4	97,0	11,9	15,4	13,7	0,06	8,5	8
A5	Хемозем	120,9	2549,8	161,4	96,8	305,3	11,0	2,25	62,1	18	17,5	870,8	37,6	19,1	66,8	0,9	12,5	34
A6	Пелозем типичный	110,9	544,4	59,9	60,5	96,5	11,4	0,77	42,0	5	6,5	52,0	2,0	3,5	3,8	0,13	8,8	3
A7		114,4	661,0	58,4	41,8	81,8	7,1	0,56	34,3	2	5,2	34,0	1,9	2,1	2,5	0,11	8,2	2
A8		106,8	635,7	62,8	34,6	104,3	7,6	1,11	36,2	4	4,0	37,1	3,6	1,3	7,1	0,11	4,0	1
A9		97,4	747,0	53,1	46,2	82,7	6,1	0,82	74,1	4	3,0	37,3	1,4	1,7	3,9	0,09	14,6	5
M1	Чернозем миграционно-сегрегационный техногенно-нарушенный	104,5	689,9	62,1	39,8	87,3	9,2	0,76	59,4	4	1,9	38,2	1,6	1,1	2,3	0,05	10,7	3
M2		124,6	577,8	107,6	37,9	172,0	7,1	0,92	26,5	5	8,4	128,6	19,5	1,9	29,1	0,20	7,2	7
M3		103,3	530,7	51,4	39,9	71,9	8,9	0,53	20,7	2	10,2	142,5	7,0	4,4	11,3	0,12	5,8	2
M4		121,6	634,1	52,9	39,3	77,0	17,3	0,52	46,9	5	11,8	210,8	8,2	4,8	14,3	0,14	12,2	6
M5		111,9	797,7	61,7	46,7	84,0	4,0	1,12	42,5	4	4,5	139,2	4,8	2,4	3,8	0,10	3,9	1
M6		105,5	645,7	60,5	49,0	84,3	7,3	0,57	49,2	3	5,4	113,2	8,5	2,7	8,6	0,09	9,2	3
M7		110,8	1170,0	67,2	49,4	87,9	11,2	0,57	28,9	4	4,2	208,8	6,2	2,0	3,2	0,09	3,3	1
M8		108,9	670,9	62,4	47,0	83,7	5,9	0,53	80,8	4	6,2	62,8	1,3	2,3	3,6	0,10	19,4	6
M9		163,8	687,4	60,7	69,4	110,6	12,4	1,44	48,5	8	9,6	86,2	1,2	4,9	3,3	0,14	4,2	2

Нормативные значения валовых содержаний и подвижных форм (*) ТМ (мг/кг) в почвах, используемые для расчета геохимических и санитарно-гигиенических показателей загрязнения

Эталонные значения		Cr	Mn	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
Класс опасности (СанПиН 1.2.3685-1, 2021)		2	3	2	2	1	1	1	1
Геохимический фон	Кларк в верхней части континентальной коры (Григорьев, 2009)	92	770	50	39	75	5,6	0,64	17
	Среднемировое содержание в почвах (Kabata-Pendias, 2000)	59,5	488	29	38,9	70	6,8	0,41	27
Санитарно-гигиенический норматив (СанПиН 1.2.3685-1, 2021)	ПДК, валовое содержание	90	1500	–	–	–	–	–	–
	ОДК (су)песчаные почвы	–	–	20	33	55	2	0,5	32
	ОДК (су)глинистые почвы, рН<5,5	–	–	40	66	110	5	1	65
	ОДК (су)глинистые почвы, рН>5,5,	–	–	80	132	220	10	2	130
	ПДК, подвижные формы	–	140*	4*	3*	23*	–	–	6*

Почвы углеотвалов шахт "Аютинская" и "Майская" характеризуются разнородностью состава поллютантов на разных площадках мониторинга. Содержание ТМ в фоновой почве (чернозем миграционно-сегрегационный) не превышает ПДК/ОДК.

На почвах территорий, подверженных влиянию углеотвалов, установлено превышение ПДК/ ОДК исследуемых элементов. Для большей части почв характерно наличие загрязнения As (1–4 ОДК для практически половины почв). Загрязнение сразу несколькими ТМ отмечено в хемоземе А5 (шахта "Аютинская"). Данная особенность элементного состава может определяться составом материала породных отвалов, сформировавших террикон. Валовое содержание исследуемых металлов убывает в ряду: $Mn > Zn > Cr > Cu > Ni > Pb > As > Cd$, а значение индекса Zc составляет 18 и 34 для валовых форм и для подвижных, соответственно.

Почти все почвы (за исключением А8), подверженные влиянию терриконов шахты "Аютинская", имеют превышения ПДК подвижных форм ТМ. Наибольшая подвижность и наибольшее превышение ПДК/ОДК отмечается для Ni (таблица 4). Площадка А4, несмотря на довольно низкие значения валового содержания ТМ, имеет высокие показатели их подвижности, что обусловлено физико-химическими свойствами данной почвы: высокой степенью засоления и легким гранулометрическим составом (таблица 3). Самую высокую подвижность в почвах, близлежащих к шахте "Аютинская", имеет Cd (до 35).

Несмотря на практически полное отсутствие загрязнения по валовому содержанию ТМ в почвах зоны влияния терриконов шахты "Майская", наблюдаются превышения значений ПДК подвижных форм. Превышение содержания Pb в 1–3,2 раза, Ni в 1–5 раз, Cu – до 1,6 раз.

4.2 Микробиологические свойства исследуемых почв углеотвалов

Результаты учета численности основных групп почвенных микроорганизмов (быстрорастущие аммонификаторы, общая численность аммонификаторов, общая численность прототрофов, актиномицетов и микромицетов) представлены в таблице 6. Полученные значения коэффициента минерализации и доли быстрорастущих аммонификаторов представлены в таблице 7.

В почвах контрольной площадки отмечена типичная для зональных почв численность исследуемых групп микроорганизмов. Доля бактерий с r-стратегией составляла здесь лишь 24 %, что косвенно свидетельствует о стабильном состоянии экосистемы. Отмечается значительно превышающих единицу коэффициент минерализации (1,72), являющийся характерным для целинных черноземов, что говорит о преобладании процессов минерализации азотсодержащей органики, что является нормой для естественных экосистем.

Максимальная численность аммонификаторов и прототрофов наблюдалась в черноземах М6 и А2 ($68,32 \pm 0,93$ и $60,18 \pm 0,74$ млн. КОЕ/г, аммонификаторов и $71,41 \pm 1,05$ и $92,59 \pm 1,23$ млн. КОЕ/г прототрофов, соответственно). Максимальная численность актиномицетов наблюдалась в М7 ($9,06 \pm 1,07$ млн. КОЕ/г) и А5 ($8,7 \pm 2,05$ млн. КОЕ/г). Сравнительно низкая численность микроорганизмов наблюдалась в черноземах техногенно-нарушенных М3, А4 и хемоземе А5.

Таблица 6

Численность микроорганизмов в почвах углеотвалов

Площадка	Углеотвал	млн. КОЕ\г абс.сух.почвы				тыс. КОЕ\г абс.сух. почвы	
		Быстрорастущие аммонификаторы	Аммонификаторы	Прототрофы	Актиномицеты	Плесневые грибы	
Чернозем		8,18±2,76	34,62±2,06	59,55±2,73	8,79±1,25	80,3±5,25	
М1	ш. «Майская»	25,31±4,27	29,21±2,24	22,51±3,57	3,91±0,39	120,46±13,04	
М2		15,29±0	33,83±7	53,38±4,17	6,68±1,51	61,04±1,39	
М3		0,49±0	0,49±0	1,11±0,12	0±0	0±0	
М6		63,71±0,57	68,32±0,93	71,41±1,05	6,85±1,56	54,81±13,52	
М7		15,96±3,11	42,68±7	27,97±5,17	9,06±1,07	107,01±7,64	
М8		18,43±2,04	36,24±2,17	56,76±4,77	6,88±1,3	80,5±2,52	
М9		14,22±0,67	42,89±6	26,02±3,31	5,7±1,19	110,69±12,58	
А1		ш. «Аютинская»	17,25±3,49	19,85±3,94	39,61±4,04	4,44±1,47	54,55±4,2
А2			46,48±6,4	60,18±0,74	92,59±1,23	6,03±1,65	42,86±2,38
А3	18,63±2,87		25,38±1,94	48,54±6,16	4,81±1,32	58,44±1,3	
А4	4,32±0,88		9,35±0,88	14,39±6,31	2,16±0,72	23,58±4,16	
А5	6,66±1,33		15,49±1,07	19,57±3,73	8,7±2,05	81,53±10,19	
А6	19,47±2,63		32,33±2,62	40,8±6,18	3,34±0,67	75,63±7,52	
А7	26,17±1,62		49,18±5,72	78,58±4,54	1,79±0,13	47,84±1,36	
А8	2,47±0,31		11,02±0,88	12,04±1,1	1,05±0,69	39,7±6,87	
А9	15,29±1,02		32,09±5,73	85,47±4,8	0,84±0,17	60,47±6,98	

Таблица 7

Значения коэффициента минерализации и доли быстрорастущих аммонификаторов в техногенно-нарушенных почвах

Площадка	Почва	$K_{\text{мин}}$	Доля быстрорастущих аммонификаторов, %
	Чернозем миграционно-сегрегационный	1,72	24
М1	Чернозем миграционно-сегрегационный техногенно-нарушенный	0,77	87
М2		1,58	45
М3		2,27	100
М6		1,05	93
М7		0,66	37
М8		1,57	51
М9		0,61	33
А1	Чернозем миграционно-сегрегационный техногенно-нарушенный	2	87
А2		1,54	77
А3		1,91	73
А4		1,54	46
А5	Хемозем	1,26	43
А6	Пелозем типичный	1,26	60
А7		1,6	53
А8		1,09	22
А9		2,66	48

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 почве данной площадки отмечено доминирование бактерий с r-стратегией, 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 ($69,0 \pm 3,2$ %) (Rouhani et al., 2023), кроме того, на поверхности почвы наблюдалась корка засоления. Сухой остаток в данной почве составил 0,83 %, что говорит об аккумуляции легкорастворимых катионов, мигрирующих из обнажившихся масс углепородного отвала. Актиномицеты в данной почве не обнаружены. Плесневые грибы не обнаруживаются даже в самом низком разведении.

Высокая численность исследуемых групп микроорганизмов обнаружена в М6, которая расположена в 20 метрах от склона и содержит включения мелкой фракции угольных частиц. Несмотря на высокую общую численность, здесь так же доминировали быстрорастущие виды бактерий (93 %), что косвенно говорит о нестабильном состоянии микробиоценоза. Вместе с тем сухой остаток составляет 1,4 %, что может являться причиной угнетения микробного сообщества. Коэффициент минерализации в почве данной площадки близок к единице, что говорит об отсутствии доминирования процессов минерализации азота над его иммобилизацией.

Полученные закономерности численности микроорганизмов углеотвала шахты Майская представлены на рисунке 14.

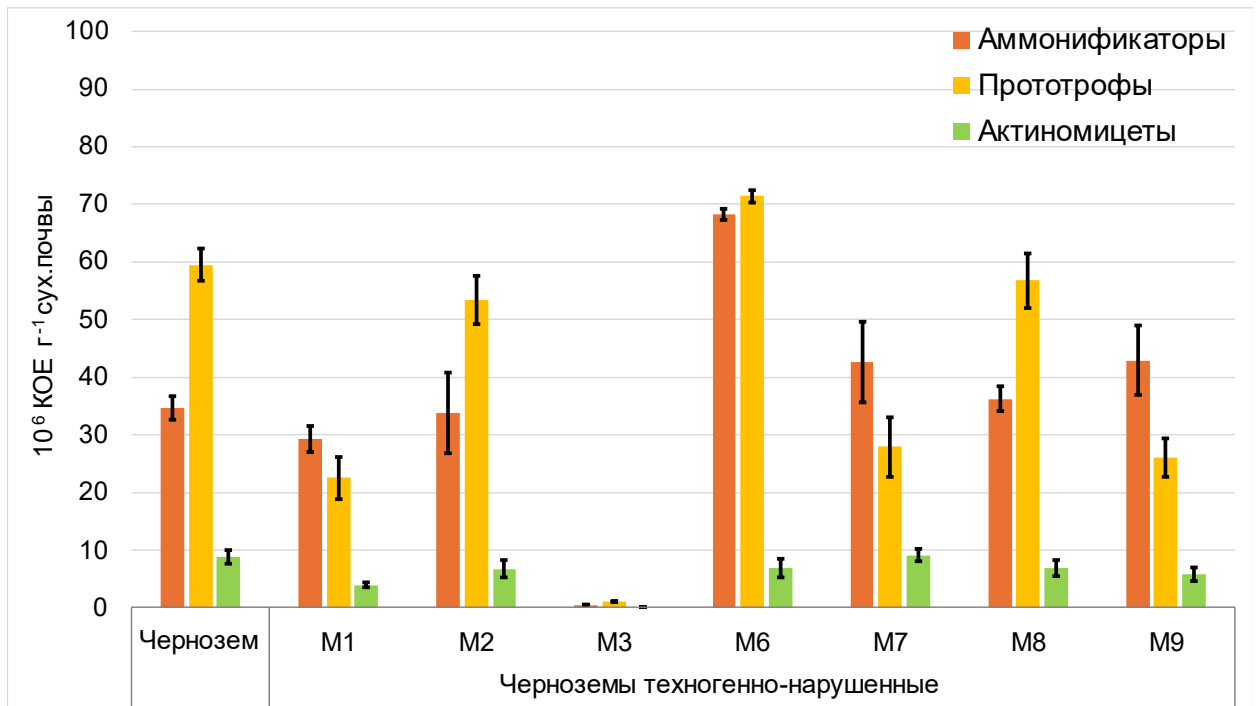


Рисунок 14 – Численность основных групп прокариот в исследуемых черноземах углеотвала шахты Майская

В целом, численность культивируемых бактерий в почвах, расположенных у подножия террикона, характеризовались более высокой долей быстрорастущих аммонификаторов по сравнению с почвами на удалении от тела углеотвала. При этом ярко выраженных закономерностей общей численности изучаемых групп микроорганизмов не выявлено. По-видимому, под влиянием миграции поллютантов из углеотвалов и поступления угольной пыли изменяется экологическая структура микробных сообществ, при этом преимущество получают виды микроорганизмов, придерживающиеся r-стратегии.

По мере удаления от углеотвала данный эффект постепенно снижается. Так, чернозем M2 расположен дальше от склона углеотвала (41 м), и доля быстрорастущих аммонификаторов в его сообществе снижена до 44%. В данной почве преобладают процессы минерализации азота, что приближает ее к контролю ($K_{\text{мин}} = 1,82$). Включений угля не было обнаружено и поверхность почвы покрыта растительностью. Преобладание процессов минерализации над иммобилизационными процессами указывает на то, что микробное

сообщество получает сравнительно мало свежего органического вещества и близко по состоянию к естественным луговым сообществам, хотя и менее многочисленно, чем сообщества в почвах, расположенных на большем расстоянии от тела углеотвала.

Численность актиномицетов слабо варьирует и составляет от 3,9 до 9,06 млн. КОЕ/г. Численность микроскопических грибов представлена на рисунке 15.

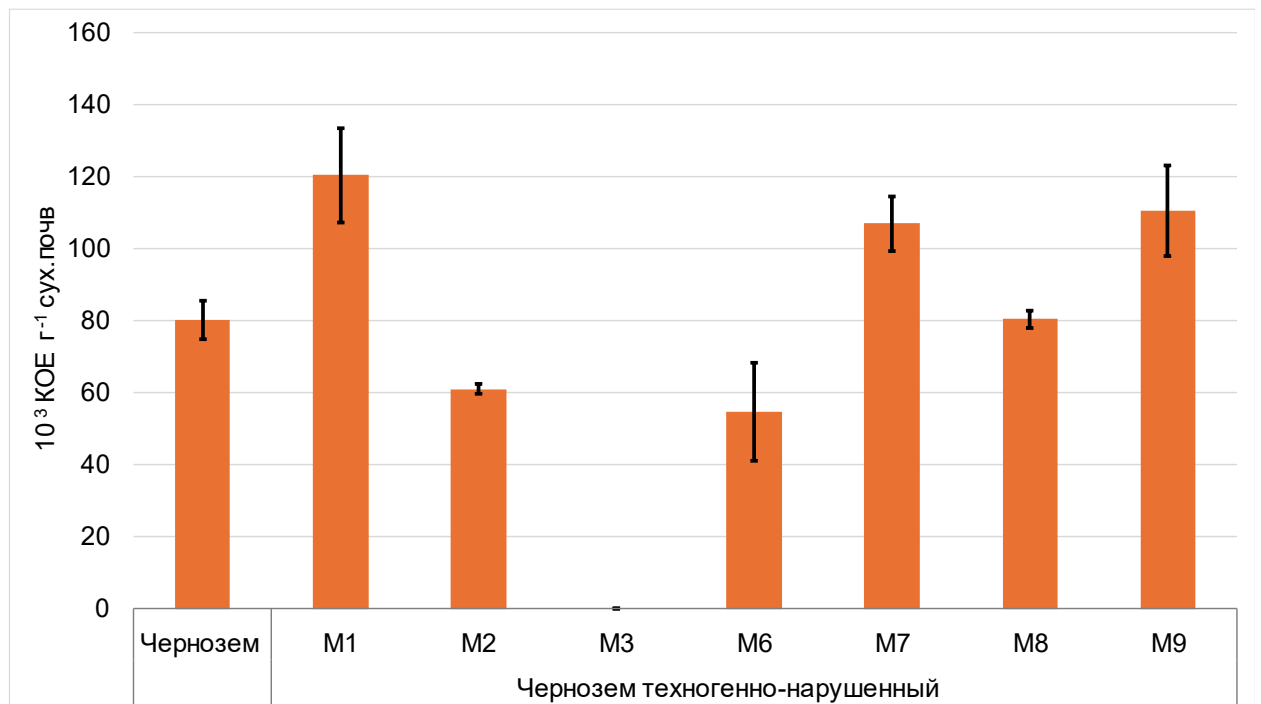


Рисунок 15 – Численность микромицетов в исследуемых почвах углеотвала шахты Майская

Численность почвенных грибов в техногенно-нарушенных черноземах достоверно различалась и демонстрировала слабовыраженный общий тренд увеличения при отдалении от склона террикона. Минимальная численность грибов обнаружена в почвах М6 и М2 ($54,81 \pm 13,52$ и $61,04 \pm 1,39$ тыс. КОЕ/г, соответственно, что может быть следствием конкуренции со стороны бактериального сообщества, характеризующегося высокой численностью в данных почвах. В почве М3 грибы не обнаруживались вовсе. По мере удаления

от тела углеотвала численность микромицетов постепенно увеличивается, что может быть связано с постепенным снижением антропогенной нагрузки.

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 черноземы техногенно-нарушенные и хемозем. 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.

Результаты учета численности основных групп почвенных микроорганизмов в исследуемых почвах террикона представлены на рисунках 16 и 17.

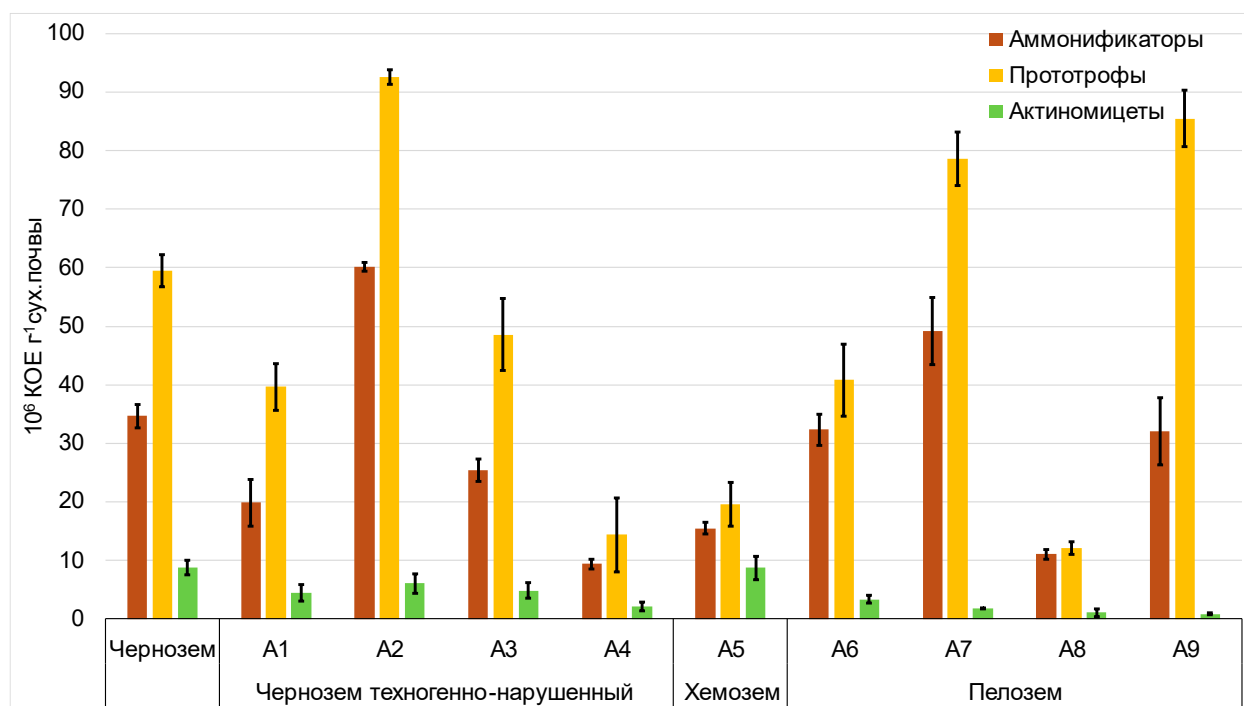


Рисунок 16 – Численность основных групп прокариот в исследуемых почвах углеотвала шахты Аютинская

Наибольшее количество микроорганизмов обнаруживалось в черноземе А2, а наименьшее – в А4. Во всех почвах преобладали бактерии,

использующие неорганические соединения азота (прототрофы). Пониженное количество микроорганизмов в почвах А4 и А5 вероятно связано с высоким уровнем загрязнения ТМ, в особенности их подвижными формами. Кроме того, они характеризуются высоким содержанием мелкой (А4) и крупной (А5) фракций включений угля. Во всех почвах наблюдалось более низкое количество прототрофов и аммонификаторов, чем в фоновом черноземе, за исключением А2, что может быть связано с интенсивным развитием растительного покрова в условиях достаточного увлажнения при умеренно-опасном уровне загрязнения. Доля актиномицетов в сообществе была максимальной в почве А5 и достигала 44%. Хемозем А5 расположен ближе всего к основанию террикона, и по содержанию подвижных форм ТМ суммарный показатель загрязнения характеризуется как опасный. Это может объяснять аномально высокую долю актиномицетов в сообществе, так как они проявляют большую толерантность к ТМ по сравнению с немиецелиальными бактериями. При этом в 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.

В почвах на склоне углеотвала численность прототрофных бактерий увеличивается с увеличением высоты и близости к вершине отвала, а актиномицетов – снижается. По сравнению с почвами у подножия отвала, актиномицетов становится сравнительно меньше (в 2,53 раз). В контрольном черноземе их численность достоверно выше, что можно объяснить более стабильным притоком свежей органики за счет наличия развитого растительного покрова. Численность аммонифицирующих бактерий колебалась с изменением высоты отбора и составляла 32–49 млн КОЕ/г и не отличалась резко от контроля. Доля R-стратегов составляла 48–60%. Низкое число актиномицетов, являющихся K-стратегами и достаточно высокая доля быстро растущих видов может свидетельствовать о том, что микробное

сообщество рекультивационного слоя все еще не достигло стабильного состояния.

В ходе полевых работ были выявлены локальные температурные аномалии на пелоземе А8, которые были вызваны протеканием экзотермических реакций в данной части террикона. Это зарегистрировано по повышению температуры до 40°C на глубине 10 см. Биологическая активность также была резко снижена. Привлекает особое внимание повышенная доля актиномицетов (9% от численности аммонификаторов в А8 и 8% в А6), которые сравнительно более устойчивы к данным неблагоприятным условиям. В остальных пелоземах (А7 и А9) количество актиномицетов было очень низким и составляло 1–2%. Отмечается большее количество микроорганизмов в почвах склона террикона по сравнению с почвами рядом со склоном.

Расчет коэффициента минерализации показал, что во всех почвах углеотвала шахты Аютинская преобладают процессы иммобилизации азота. Наиболее активно они протекали в черноземах А1, А3 и пелоземе А9.

Количество микроскопических грибов варьировало и в целом было ниже, чем на фоновом черноземе, кроме хемозема А5 и пелозема А6 (рисунок 17). Низкая численность микромицетов в А2 может объясняться высокой увлажненностью почвы, связанной с близостью к водоему. В литературе (Кулагина и др., 2019) отмечается высокая чувствительность грибов к затоплению почв. Кроме того, подавление грибов в А2 может быть связано с высокой численностью бактерий и конкуренцией. При этом в сильно загрязненном хемоземе А5, на фоне сниженной численности бактерий наблюдается высокая численность плесневых грибов, которые, как и актиномицеты, достаточно устойчивы к ТМ. Наблюдаемое минимальное количество грибов в пелоземе А8 аналогично общей тенденции для прокариотических организмов и наиболее вероятно вызвано эндогенным горением подстилающих масс. Высокая численность плесневых грибов в А5 и А6 может быть обусловлена локальным накоплением доступных питательных субстратов.

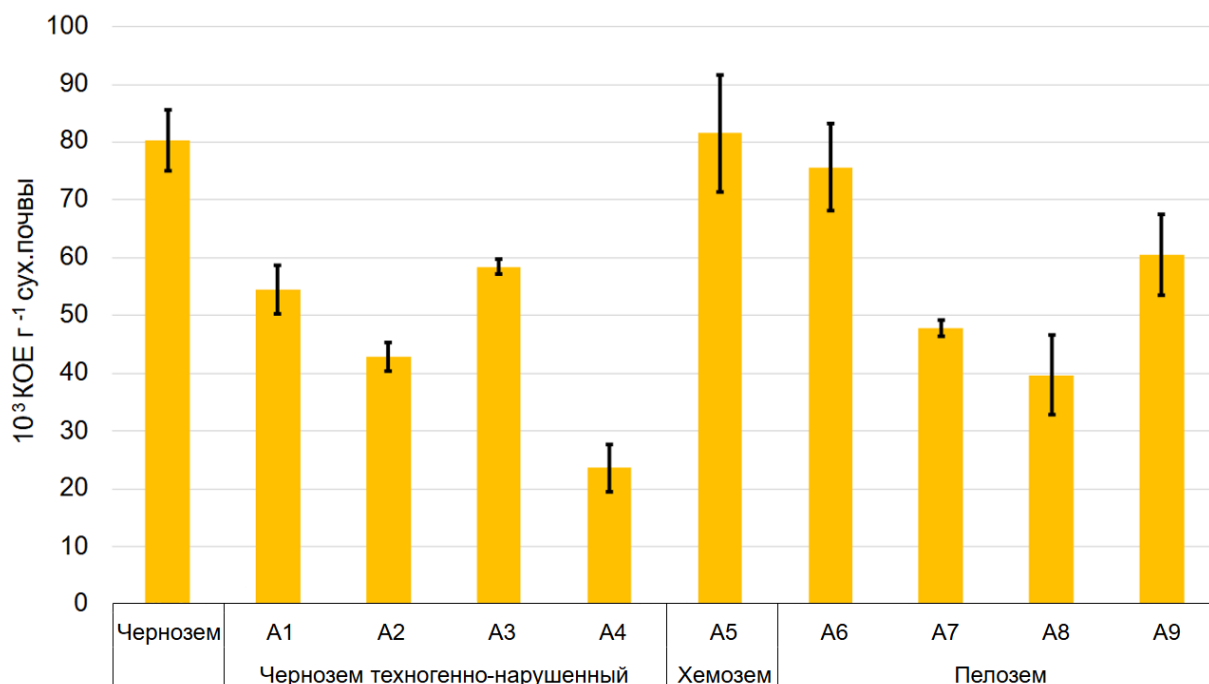


Рисунок 17 – Численность микромицетов в исследуемых почвах углеотвала шахты Аютинская

Проведенный статистический анализ показал наличие ряда корреляционных связей между показателями загрязнения почв районов угледобычи и численностью отдельных групп культивируемых микроорганизмов.

В почвах углеотвала шахты Аютинской наблюдались корреляционные взаимосвязи численности ряда групп микроорганизмов с концентрацией ТМ (таблица 8). Рассчитана положительная корреляция средней силы ($r=0,7$) между численностью актиномицетов и валовыми формами Zn в почвах. При этом для подвижных форм металла достоверной корреляции не установлено. Вероятно, в данном случае наблюдается влияние косвенных биотических связей в микробном сообществе. Возможно, происходит подавление прочих, менее устойчивых к металлам групп бактерий (Shuaib et al., 2021), на что указывает отрицательная корреляция средней силы ($r=-0,68$) между содержанием подвижных форм Zn и численностью аммонификаторов. Аналогичные наблюдения сделаны ранее в техногенно нарушенных почвах г.

Таганрога (Pulikova et al., 2023). Выявлена средняя по силе положительная связь ($r=0,67$) численности актиномицетов с содержанием подвижных форм Ni и сильная связь ($r=0,73$) с общим коэффициентом суммарного загрязнения, рассчитанным по содержанию подвижных форм металлов. Известно, что Ni является необходимым микроэлементом для стрептомицетов, поскольку входит в состав активного центра их супероксиддисмутазы, и имеются специфические системы для его захвата и транспорта (Ahn et al., 2006), что особенно важно в условиях окислительного стресса, индуцируемого другими поллютантами.

Корреляции биологических показателей и физико-химических свойств в исследуемых почвах

Показатель	pH	<0,001	<0,01	Mn вал	Mn ААБ	Zn вал	Zn ААБ	Ni вал	Ni ААБ	Pb вал	Pb ААБ	Cu вал	Cu ААБ	Cr вал	Zc вал	Zc обм
Почвы зоны влияния породного углеотвала шахты «Аютинская»																
Быстрорастущие аммонификаторы	-0,02	0,15	0,15	0,22	0,00	0,07	-0,52	-0,43	-0,40	- 0,03	0,20	-0,02	-0,38	0,25	0,04	-0,17
Аммонификаторы	0,22	0,37	0,37	0,23	-0,18	0,05	-0,68	-0,60	-0,63	0,12	0,32	-0,13	-0,49	0,27	0,11	-0,33
Прототрофы	0,01	0,23	0,23	0,40	-0,03	0,00	-0,50	-0,65	-0,57	0,35	0,55	0,02	-0,27	-0,05	0,30	-0,10
Актиномицеты	-0,70*	-0,57	-0,57	0,60	0,87**	0,70*	0,57	0,40	0,67*	0,27	0,30	0,38	0,18	-0,22	0,45	0,73*
Плесневые грибы	-0,21	-0,12	-0,12	0,52	0,28	0,45	0,07	0,12	0,03	0,52	0,58	0,47	0,33	0,23	0,46	0,23
Чернозем техногенно-нарушенный зоны влияния породного углеотвала шахты «Майская»																
Быстрорастущие аммонификаторы	0,49	0,39	0,18	0,36	-0,46	-0,11	-0,75	0,11	0,07	0,75	0,54	-0,04	-0,46	-0,21	- 0,07	-0,32
Аммонификаторы	0,94**	0,14	0,21	0,32	0	0,29	-0,54	0	-0,14	0,32	- 0,07	0,75	0,36	0,54	0,21	-0,14
Прототрофы	0,81*	0,46	0,14	-0,04	-0,07	0,11	-0,21	0,32	0,25	0,43	0,11	0,14	-0,07	0,32	0,3	0,21
Актиномицеты	0,63	0,82*	0,32	0,43	0,21	0,18	-0,21	0,57	0	0,32	- 0,07	0,39	-0,18	0,43	0,32	0,04
Плесневые грибы	0,04	0,32	0,75	0,86**	-0,54	0,46	-0,36	0,36	-0,68	0,50	0,11	0,21	-0,36	0,36	0,49	-0,86**

*- при $p < 0.05$, ** - при $p < 0.01$

Проведено сравнение результатов биологических показателей почв углеотвалов шахт Аютинской и Майской, отобранных в различных элементах техногенного рельефа: на склонах и у подножия углеотвала, использовали Mann-Whitney U-Test (таблица 9). Площадки А6-А9 отобраны со склоновой зоны углеотвала, поэтому было проведено их сравнение с почвами площадок А1-А5, расположенных у подножия и на прилегающей к отвалу территории. В таблице 3 можно видеть, что достоверно значимая разница была зафиксирована только для численности актиномицетов. При сравнении почв углеотвалов значительной разницы не было выявлено.

Таблица 9

Сравнение биологических показателей по результатам Mann-Whitney U Test

Биологические показатели	p-level		
	А1-А5 / А6-А9	А1-А5 / М1-М7	Аютинский / Майский отвалы
Быстрорастущие аммонификаторы	1	0,92	0,96
Аммонификаторы	0,46	0,35	0,27
Прототрофы	0,81	0,92	0,63
Актиномицеты	0,03	0,75	0,15
Плесневые грибы	0,22	0,25	0,08

ГЛАВА 5 ВЛИЯНИЕ ХЕЛАТИРУЮЩИХ АГЕНТОВ НА БИОДОСТУПНОСТЬ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И СТРУКТУРУ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ХЕМОЗЕМА

5.1 Влияние хелатирующих агентов на валовое содержание и подвижность тяжелых металлов в хемоземе

Анализ содержания общего количества ТМ в хемоземе А5, отобранном у подножия угольного отвала, показал, что превышение нормативов предельно допустимой концентрации (ПДК) по СанПиН 1.2.3685-21 составило для Cd в 1,3 раза, для Zn в 1,4 раза, для Ni в 2 раза (таблица 10). Содержание подвижных форм составило для Pb 1,7 ПДК, для Zn 3,3 ПДК, для Cu 6,2 ПДК, для Ni 10 ПДК.

Таблица 10

Валовое содержание и подвижные формы ТМ в хемоземе при внесении
комплексообразователей, мг/кг

Хелатирующий агент	Концентрация, ммоль/кг	Pb	Ni	Zn	Cu	Cd	
Почва без комплексонов	0	валовое содержание	65.1±2.5	162.5±3.9	306.2±7.9	126.2±4.3	2.6±0.2
		подвижные формы	10.2±0.3	39.8±0.1	76.6±2.7	18.6±0.8	1.0±0.0
Na-ЭДТА	1	валовое содержание	64.4±4.5	160.1±2.8	290.6±7.8	119.6±2.8	2.9±0.1
		подвижные формы	12.0±0.4	45.7±0.2	82.8±2.2	19.3±0.3	1.2±0.0
	2	валовое содержание	65.4±3.6	170.5±3.5	290.1±8.2	121.4±5.1	2.7±0.2
		подвижные формы	12.9±1.2	47.4±1.2	86.9±2.0	20.1±0.8	1.2±0.0
	5	валовое содержание	64.8±6.3	166.3±4.8	288.7±7.0	115.3±5.0	2.5±0.2
		подвижные формы	18.2±0.5	62.3±1.3	105.6±2.2	38.9±0.8	1.3±0.0
	10	валовое содержание	70.4±1.3	164.8±6.2	291.3±7.9	117.9±4.3	2.4±0.1
		подвижные формы	21.3±0.8	71.1±1.9	152.8±2.1	42.1±0.9	1.4±0.1

Продолжение таблицы 10

Лимонная кислота	1	валовое содержание	65.1±0.9	160.6±5.8	289.8±12.1	123.3±4.9	2.9±0.2
		подвижные формы	11.6±0.8	38.9±0.9	66.0±1.2	19.4±1.7	1.1±0.0
	2	валовое содержание	62.5±2.3	168.7±1.2	290.3±7.1	126.6±5.2	2.7±0.1
		подвижные формы	12.7±0.4	39.7±1.3	69.1±2.9	19.7±1.2	1.1±0.0
	5	валовое содержание	67.4±3.8	164.2±5.7	288.1±6.8	129.3±7.8	2.4±0.2
		подвижные формы	16.4±0.9	59.9±2.1	90.9±1.9	31.9±4.2	1.3±0.0
10	валовое содержание	64.3±0.6	168.6±4.9	288.4±8.0	123.5±6.2	2.8±0.0	
	подвижные формы	19.4±0.2	63.3±3.9	120.4±6.4	41.6±2.1	1.3±0.0	
Щавелевая кислота	1	валовое содержание	66.6±1.9	167.8±7.9	287.8±4.2	126.7±2.9	2.4±0.1
		подвижные формы	10.5±0.7	37.9±1.9	62.1±2.3	19.2±2.1	1.0±0.0
	2	валовое содержание	64.4±4.9	168.6±2.3	290.3±8.1	121.6±6.9	2.6±0.2
		подвижные формы	12.0±0.7	36.0±1.2	65.5±1.5	22.4±0.9	1.2±0.0
	5	валовое содержание	67.3±1.9	166.2±0.9	288.8±8.3	132.5±2.9	2.4±0.2
		подвижные формы	15.0±0.8	49.8±0.4	81.8±1.8	36.2±2.3	1.4±0.0
10	валовое содержание	64.8±2.9	167.2±5.2	291.0±7.2	136.7±5.8	2.6±0.2	
	подвижные формы	18.7±0.7	53.9±2.1	109.1±2.3	39.1±0.9	1.5±0.1	

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 (Ćendić et al., 2017). Лимонная и щавелевая кислоты в меньшей степени трансформировали прочно связанные формы ТМ в подвижные формы, поскольку они являются тридентатными и бидентатными лигандами (Al-Qahtani, 2017).

Wu et al. сообщили о значительном увеличении содержания доступных ТМ в почве после добавления ЭДТА (Wu et al., 2004). Заметный эффект был получен для Cu и Pb. Это может быть связано с тенденцией этих элементов образовывать связи с органическим веществом почвы, особенно Pb. Однако, используя выщелачивающие колонки, они показали, что повышенная доступность металлов приводит к их легкой миграции вниз по профилю и выщелачиванию, особенно в периоды сильных осадков.

Jean-Soro с соавторами отметили, что помимо ожидаемого увеличения концентрации ТМ и его выщелачивания из почвы, даже после прекращения использования хелатирующего агента и дальнейшей промывки почвы водой выщелачивание продолжалось (Jean-Soro et al., 2012). Причиной этого явления могла быть сорбция хелатирующего агента на почвенных минералах. Неконтролируемая мобилизация ТМ является еще одним фактором, увеличивающим риск загрязнения грунтовых вод.

5.2 Влияние хелатирующих агентов на накопление тяжелых металлов в растениях

Установлен дозозависимый эффект между накоплением ТМ растениями и увеличением подвижности металлов при внесении хелатирующих агентов. Аналогичная зависимость выявлена между концентрацией подвижных металлов и концентрацией хелатирующих агентов в почве. Содержание ТМ у *E. repens* как в корнях, так и в побегах уменьшалось в ряду во всех вариантах опыта: $Zn > Cu > Pb > Ni > Cd$ (таблица 11). Содержание металлов в корнях *M. sativa* уменьшалось в ряду: $Zn > Ni > Pb > Cu > Cd$. Несмотря на то, что Na-ЭДТА является более сильным хелатором, накопление ТМ растениями оказалось несколько выше при внесении лимонной кислоты. 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. Внесение Na-ЭДТА в дозе 10 ммоль/кг привело к увеличению содержания Pb в корнях *E. repens* в 4,8 раза, Cu в 3,5 раза, Cd в 2,9 раза, Zn в 2 раза, 5 раз и Ni в 1,8 раза. В биомассе *M. sativa* отмечено увеличение содержания Ni в побегах в 9,4 раза, Cd и Cu в 5,0 и 5,2 раза, Zn в 4,4 раза и Pb в 3,9 раза. Наибольшее накопление ТМ в растениях наблюдалось в вариантах с внесением лимонной кислоты, что привело к содержанию Cd, Zn, Ni, Cu и Pb в органах растений, близкому к вариантам с Na-ЭДТА. Вероятно, это связано с тем, что лимонная кислота усваивается быстрее и менее токсична по сравнению с ЭДТА (Araújo de, Nascimento do, 2010; Liu et al., 2022). Ранее было показано, что лимонная кислота способствует удалению ТМ из загрязненных почв, сохраняя при этом необходимые для жизни макроэлементы, и может смягчать окислительный стресс у растений (Shinta et al., 2021). Полученные результаты согласуются с существующими наблюдениями. В исследовании Ма и соавторов лимонная кислота была лучше, чем яблочная и щавелевая кислоты, в увеличении доступности Cd. Лимонная кислота также была лучше, чем другие низкомолекулярные органические кислоты, в увеличении

количества бактерий, активности ферментов и улучшении структуры бактериального сообщества (Ma et al., 2020). По сравнению с контролем доля Cd, извлекаемого уксусной кислотой, увеличилась на 3,1–6,6%, 6,1–9,4% и 1,9–6,2% в группах обработки, в которые вносили яблочную, лимонную и щавелевую кислоты соответственно. Авторы связывают это с тем фактом, что органические кислоты с двумя или тремя карбоксильными группами могут образовывать комплексы Cd-органическая кислота с 5- или 6-членными кольцевыми структурами. Таким образом, увеличивается подвижность Cd в почве и растениях. В исследовании Chigbo и Batty было обнаружено, что лимонная кислота увеличивает растворимость Cr в почве и увеличивает количество Cr, которое поглощается корнями и перемещается в побеги *M. sativa* (Chigbo, Batty, 2013). Авторы связывают увеличение перемещения металла в растения с тем фактом, что лимонная кислота высвобождает ионы металла легче, чем ЭДТА.

Таблица 11

Содержание ТМ в *E. repens* и *M. sativa* при внесении различных доз хелатирующих агентов в хемозем, мг/кг

Хелатирующий агент	Доза, ммоль/кг	Части растения	Zn		Cd		Ni		Pb		Cu	
			<i>E. repens</i>	<i>M. sativa</i>	<i>E. repens</i>	<i>M. sativa</i>	<i>E. repens</i>	<i>M. sativa</i>	<i>E. repens</i>	<i>M. sativa</i>	<i>E. repens</i>	<i>M. sativa</i>
Почва без хелаторов	0	побеги	29±2.0	38.1±2.1	2.2±0.1	3.2±0.2	1.7±0.1	6.3±0.4	4.6±0.3	21.5±1.5	19.4±1	8.6±0.5
		корни	72.6±4.9	25.6±1.5	3.9±0.2	1.6±0.1	13.9±0.8	5.6±0.3	11.7±0.6	8.2±0.5	33.7±2.1	10.0±0.5
Na-ЭДТА	1	побеги	31.2±2	49.7±3	3.4±0.2	5.5±0.4	2.8±0.2	15.2±1	8.1±0.4	26.4±1.4	22.1±1.2	11.2±0.8
		корни	80.9±5.3	27.9±1.4	4.8±0.3	2.5±0.2	14.8±1	11.5±0.7	17.2±1.2	10.3±0.5	39.5±2.0	10.4±0.7
	2	побеги	33.5±2	66.2±4.3	3.5±0.2	7.9±0.4	4.6±0.2	30.7±1.7	15.2±0.9	41.5±2.3	24.6±1.3	13.8±0.8
		корни	85.2±5.2	35.4±2.3	5.0±0.3	3.1±0.2	15.2±1	21.3±1.4	21.9±1.4	15.5±0.9	43.9±2.7	10.3±0.7
	5	побеги	59.8±4.2	98.2±5.8	5.9±0.4	11±0.6	10.9±0.5	41.1±2.3	38.2±2.6	71.7±3.8	68.5±4.8	35.5±2.5
		корни	120.6±6.5	52.3±2.9	7.8±0.5	3.4±0.2	22.3±1.4	26.5±1.7	44.1±2.7	25.0±1.4	99.5±6.2	21.7±1.1
	10	побеги	111.2±7	167.9±9.6	10.15±0.7	15.9±1.0	14.5±0.8	59.4±3.4	56.9±3	84.6±5.7	78.3±4.9	44.9±2.3
		корни	185.1±9.4	90.5±6.2	11.5±0.6	4.5±0.3	25.1±1.7	37.3±2.5	55.8±3.5	29.4±1.6	117.4±7.7	23.2±1.3
Лимонная кислота	1	побеги	30.2±7.6	39.6±2.2	3.4±0.2	4.6±0.2	1.8±0.1	6.9±0.4	6.8±0.5	23.9±1.3	30.5±1.6	12.3±0.7
		корни	75.8±5.0	26.1±1.1	4.9±0.3	2.2±0.1	14±1.0	5.7±0.3	15.1±0.9	9.2±0.6	42.9±2.8	10.2±0.6
	2	побеги	31.8±2.2	48.4±3	4.1±0.2	5.9±0.4	3.7±0.2	16.5±0.9	14.2±0.8	39.3±2.1	33.9±2.3	15.8±1.1
		корни	82.9±5.5	30.8±1.9	4.9±0.3	2.5±0.2	14.9±0.9	11.6±0.6	22±1.4	14.4±1	51.5±3.2	10.4±0.6

Продолжение таблицы 11

Лимонная кислота	5	побеги	39.9±2.4	79.5±5.2	5.9±0.4	9.1±0.6	10.5±0. 7	27.7±1. 5	26.1±1.8	50.9±2.7	75.4±3.8	34.9±2.4
		корни	102.9±6.6	50.9±3	6.9±0.4	3.0±0.2	40.9±2. 1	17.3±1. 1	35.9±2.3	18.7±1.1	90.3±6.2	21.6±1.3
	10	побеги	93.1±6.0	97.3±6.8	9.6±0.5	13.4±0.7	24.7±1. 4	38.5±1. 9	46.4±3.2	85.1±5.4	96.8±5.9	52.5±3.5
		корни	170.4±9.2	57.0±3.4	10.9±0.6	3.9±0.2	53.1±2. 9	22.7±1. 5	50.9±3.3	29.5±2	122.7±7. 2	32.8±2.2
Щавелевая кислота	1	побеги	28.9±1.5	39.5±2.2	3.0±0.2	4.5±0.3	2.5±0.1	10.4±0. 6	5.6±0.4	22.5±1.1	26.5±1.7	8.9±0.6
		корни	73.8±3.7	26.7±1.6	4.3±0.2	2.2±0.1	13.9±1	8.5±0.5	13.8±0.8	8.3±0.5	39.1±2.5	10.1±0.5
	2	побеги	32.7±1.8	48.2±2.8	4.2±0.2	5.3±0.3	7.0±0.5	21.2±1. 5	11.8±0.7	41.9±2.8	34.1±2.4	13.6±0.9
		корни	74.9±4.9	30.6±1.6	6.3±0.4	2.7±0.2	24.8±1. 4	15.6±0. 8	20.5±1	15.4±1.0	49.8±3.4	10.3±0.7
	5	побеги	44.8±2.2	87.4±4.8	6.0±0.3	10.1±0.7	15.5±1	26.8±1. 8	25.9±1.3	63.8±4.1	76.4±5.0	31.7±2.1
		корни	99.5±5.9	50.1±2.8	7.7±0.4	3.9±0.2	30.9±2. 1	19.7±1	32.5±1.7	22.8±1.4	95.6±6.7	21.6±1.3
	10	побеги	78.9±4.3	114.9±6. 9	8.1±0.5	14.7±0.8	25.6±1. 3	39.1±2. 5	42.8±2.7	99.9±5.7	90.6±5.4	38.7±2.1
		корни	135.1±6.8	68.6±4.5	10.1±0.7	4.9±0.3	38.6±2. 5	26.5±1. 4	45.8±2.3	35±2.1	108.1±7. 1	25.5±1.4

Интенсивность поступления ТМ в корни растений увеличивалась при дозах 5-10 ммоль/кг хелатирующих агентов (таблица 12, рисунок 18 и 19). 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.

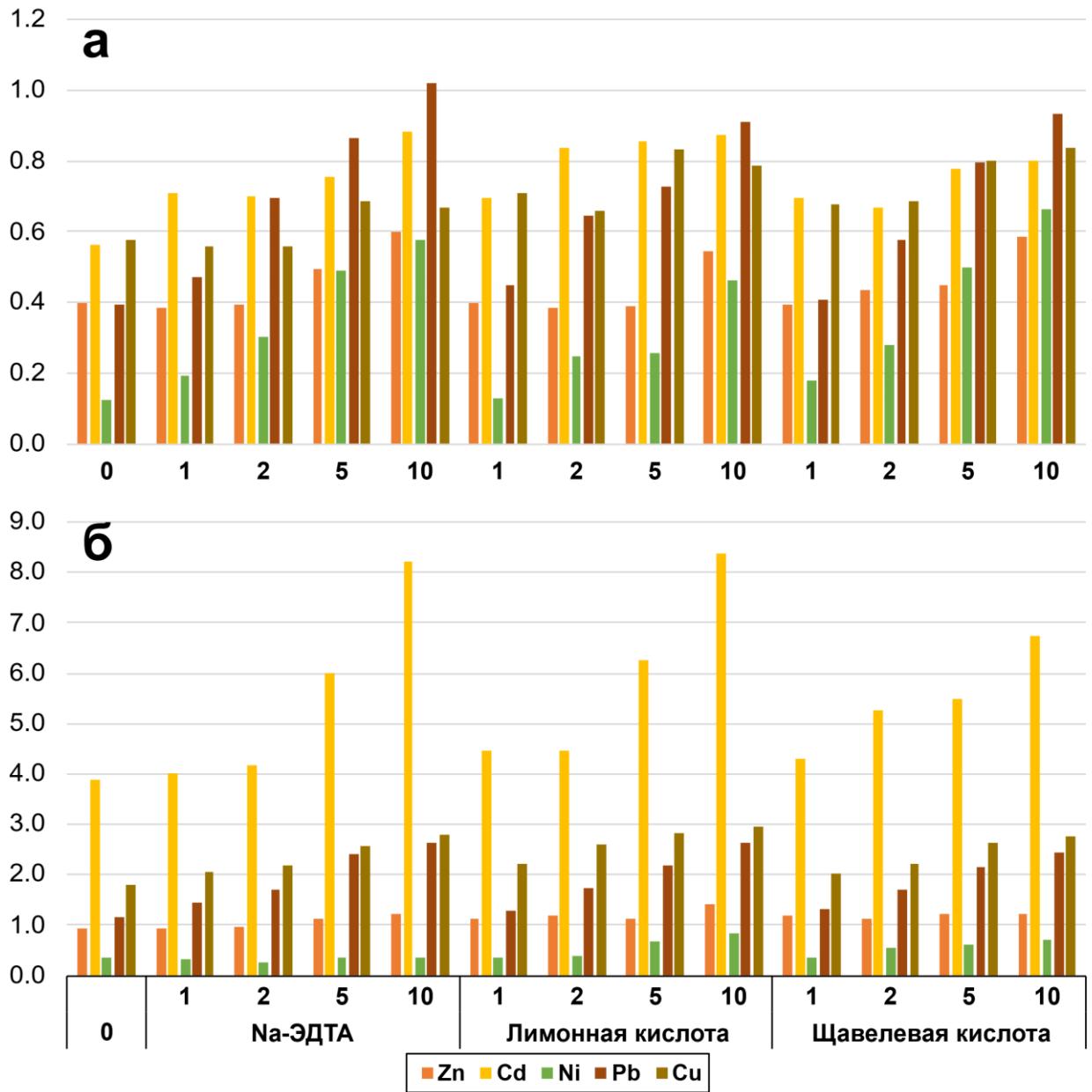


Рисунок 18 – Акропетальный фактор (а) и коэффициент накопления (б) ТМ в *Elytrigia repens*: 0 – без добавления

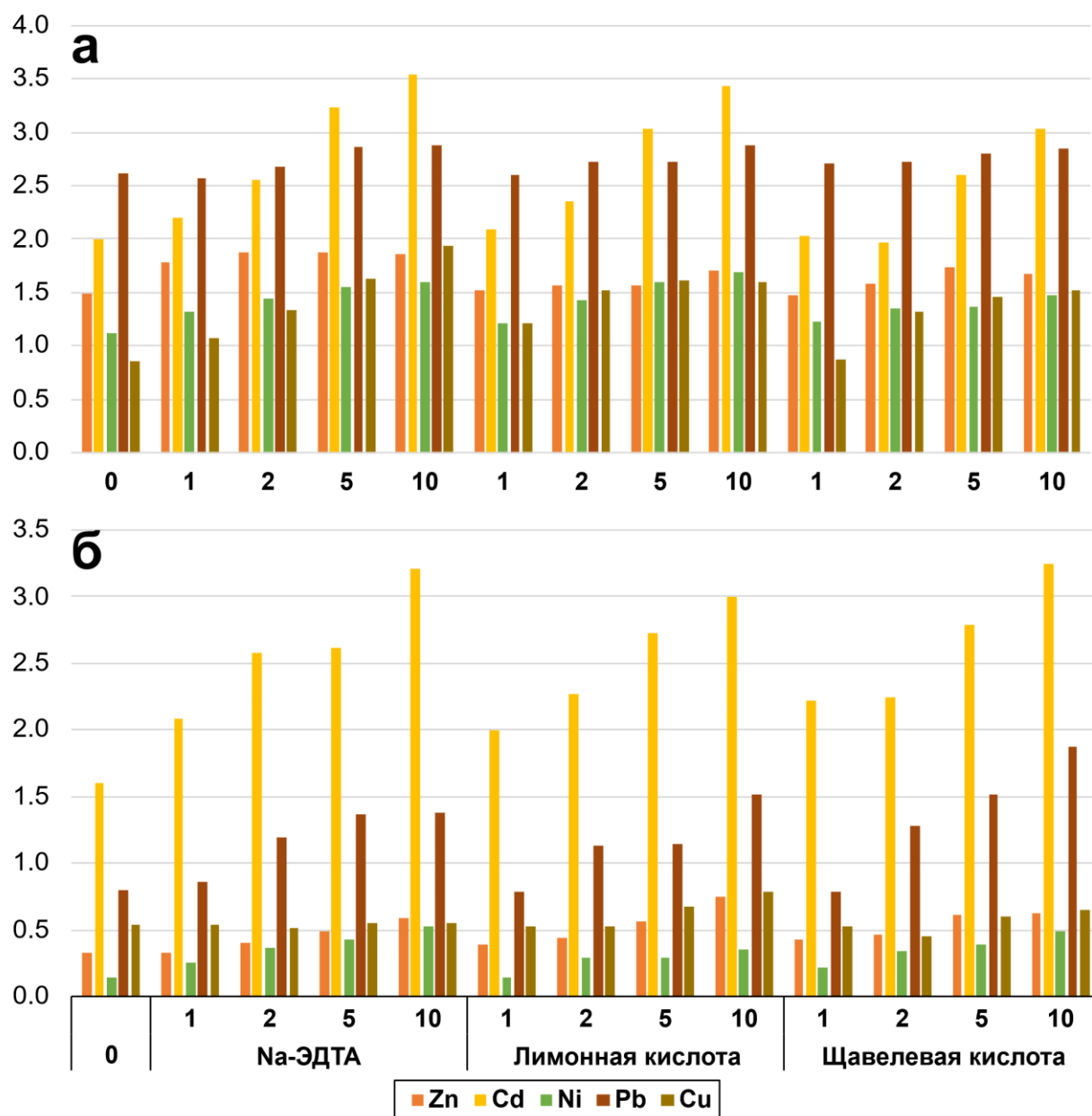


Рисунок 19 – Акропетальный фактор (а) и коэффициент накопления (б) ТМ в *Medicago sativa*: 0 – без добавления

MANOVA. Влияние различных хелатирующих агентов и доз на содержание ТМ в почве, растениях, на АК и КН

ТМ	Ni	Ni	Zn	Zn	Cu	Cu	Cd	Cd
	F	p	F	p	F	p	F	p
фактор	Содержание подвижных форм ТМ в хемоземе							
Хелатирующий агент	49,6	<0,01	50,6	<0,01	50,7	<0,01	15250,7	<0,01
Доза	124,9	<0,01	101,5	<0,01	9,8	<0,01	7318,9	<0,01
Хелатирующий агент*Доза	76,8	<0,01	74,4	<0,01	107,5	<0,01	9636,1	<0,01
фактор	Содержание ТМ в побегах растений							
Хелатирующий агент	2656,3	<0,01	553,4	<0,01	6,2	<0,01	23,9	<0,01
Доза	1062,3	<0,01	159,2	<0,01	7,3	<0,01	278,0	<0,01
Хелатирующий агент*Доза	1234,0	<0,01	235,4	<0,01	29,0	<0,01	160,9	<0,01
фактор	Содержание ТМ в корнях растений							
Хелатирующий агент	1650,1	<0,01	6,5	<0,01	251,4	<0,01	3609,2	<0,01
Доза	1745,0	<0,01	166,7	<0,01	20,3	<0,01	1882,3	<0,01
Хелатирующий агент*Доза	1395,8	<0,01	81,9	<0,01	11,5	<0,01	2382,4	<0,01
фактор	АК ТМ в тканях растений							
Хелатирующий агент	1069,7	<0,01	218,4	<0,01	45,4	<0,01	7,4	<0,01
Доза	18,7	<0,01	20,1	<0,01	28,9	<0,01	3,9	0,0
Хелатирующий агент*Доза	63,5	<0,01	56,6	<0,01	36,6	<0,01	4,9	<0,01
фактор	КН ТМ в побегах растений							
Хелатирующий агент	112,5	<0,01	123,8	<0,01	73,0	<0,01	47,4	<0,01
Доза	180,4	<0,01	84,1	<0,01	5,5	<0,01	296,0	<0,01
Хелатирующий агент*Доза	251,4	<0,01	178,6	<0,01	29,5	<0,01	166,4	<0,01
фактор	КН ТМ в корнях растений							
Хелатирующий агент	49,6	<0,01	50,6	<0,01	50,7	<0,01	15250,7	<0,01
Доза	124,9	<0,01	101,5	<0,01	9,8	<0,01	7318,9	<0,01
Хелатирующий агент*Доза	76,8	<0,01	74,4	<0,01	107,5	<0,01	9636,1	<0,01

Положительный эффект наблюдался при индуцированной фиторемедиации с *E. repens* и *M. sativa* в хемоземе угольного отвала, загрязненного ТМ. 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*. Это способствует снижению загрязнения высокотоксичными элементами, такими как Cd, Pb, Cu, Ni и Zn. Несмотря на более высокую подвижность ТМ в вариантах с добавлением Na-ЭДТА, 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.

В целом, использование *Elytrigia repens*, широко распространенного в местных природных ценозах степной зоны, и широко используемого растительного фитоэкстрактора *Medicago sativa* в сочетании с лимонной кислотой является перспективным подходом для фиторемедиации загрязненных ТМ почв угольных отвалов. Индуцированная фиторемедиация, основанная на тщательном подборе видов растений и доз хелатирующих агентов, может предложить устойчивый подход к рекультивации экосистем, нарушенных угольной промышленностью, за счет поддержания стабильности микробиома почвы и баланса питательных элементов. В дальнейшем полученные результаты будут использованы для разработки комбинированного метода индуцированной фиторемедиации микробами и хелатирующими агентами для восстановления почв угольных отвалов.

5.3 Влияние хелатирующих агентов на структуру микробных сообществ хемозема

При добавлении Na-ЭДТА и лимонной кислоты численность аммонифицирующих бактерий увеличивается в 4,0–8,6 раза по сравнению с необработанной загрязненной почвой (рисунок 20). Численность прототрофных бактерий снижается в 1,9–9,0 раза с увеличением концентрации хелатирующих агентов. Плесневые грибы, дрожжи и целлюлозолитические

бактерии оказались нечувствительны к обработке, так как достоверного влияния на численность этих микроорганизмов не обнаружено (таблица 14).

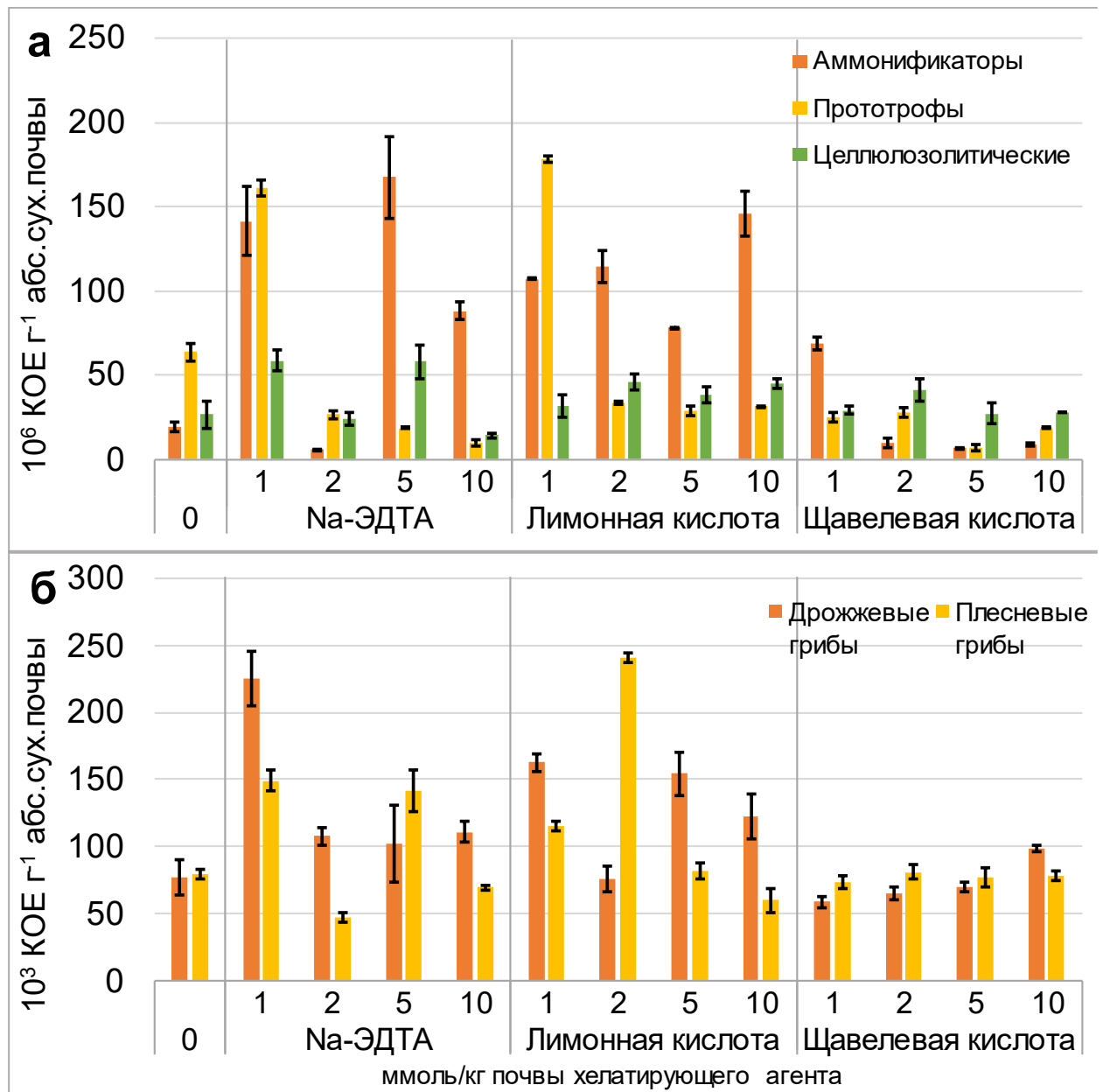


Рисунок 20 – Влияние хелатирующих агентов на экологическую структуру культивируемых микроорганизмов в хемоземе: 0 – без добавления

Органические кислоты, такие как лимонная, яблочная и щавелевая, могут оказывать различное влияние на численность и активность бактерий. Было показано, что среди яблочной, лимонной и щавелевой кислот лимонная кислота стимулировала численность и разнообразие микроорганизмов

больше, чем другие (Ma et al., 2020). С увеличением концентрации Na-ЭДТА, лимонной и щавелевой кислот наблюдается снижение численности прототрофных бактерий. Аналогичным образом, Eilers et al. отметили увеличение численности аммонифицирующих бактерий после добавления органических кислот (Eilers et al., 2010). Вероятно, это связано с тем, что органические кислоты могут минерализоваться микробами, например, 70% лимонной кислоты минерализуется в почве в течение 20 дней (Wen et al., 2009). Однако этот процесс осуществляется аммонификаторами, придерживающимися r-стратегии роста, что приводит к конкурентному подавлению прототрофной микробиоты (Eilers et al., 2010). Кроме того, органические кислоты дестабилизируют органическое вещество почвы, хелатируя связанные металлы (Clarholm et al., 2015). Это позволяет микробам начать его разложение и утилизировать его. Было обнаружено, что целлюлозолитические бактерии, плесневые грибы и дрожжи менее чувствительны к добавлению хелатирующих агентов (таблица 13). Ранее было обнаружено, что плесневые грибы устойчивы к ТМ в загрязненных почвах (Kaurin et al., 2018), поэтому увеличение биодоступности ТМ не оказало выраженного влияния на их численность. Результаты MANOVA показывают, что численность культивируемых микроорганизмов в основном зависит от типа хелатирующего агента и в меньшей степени от его концентрации.

MANOVA. Влияние различных хелатирующих агентов и доз на численность и активность микроорганизмов

Фактор	F	p	F	p
	Аммонификаторы		Прототрофы	
Хелатирующий агент	251,9	<0,01	1301,5	<0,01
Доза	55,0	<0,01	3895,4	<0,01
Хелатирующий агент* Доза	65,3	<0,01	839,2	<0,01
Фактор	Целлюлозолитические бактерии		Плесневые грибы	
Хелатирующий агент	9,5	<0,01	137,4	<0,01
Доза	9,6	<0,01	100,5	<0,01
Хелатирующий агент* Доза	27,7	<0,01	231,6	<0,01
Фактор	Дрожжевые грибы			
Хелатирующий агент	84,8	<0,01		
Доза	39,0	<0,01		
Хелатирующий агент* Доза	27,6	<0,01		

Установлено, что внесение в хемозем 5–10 ммоль/кг хелатирующих агентов приводит к снижению численности прототрофных бактерий.

ГЛАВА 6 ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОРЕМЕДИАЦИИ ПОЧВ УГЛЕОТВАЛОВ ВОСТОЧНОГО ДОНБАССА

6.1 Влияние микоризации и хелатирующих агентов на физико-химические свойства хемозема

Природные хелатирующие агенты (лимонная, винная, щавелевая, яблочная кислоты) относятся к низкомолекулярным органическим кислотам, они биоразлагаемы и безвредны для окружающей среды и обладают большим потенциалом применения (Chen et al., 2020). Однако, несмотря на высокую эффективность удаления ТМ, они могут оказывать необратимое воздействие на физические и химические свойства почв, снижая плодородие и увеличивая экологические риски. В связи с чем при проведении оценки эффективности применения индуцированной фиторемедиации необходимо исследование изменения основных свойств почв.

Содержание Сорг в почве – один из основных факторов эффективности ремедиации. Концентрация Сорг на контроле составляет 1,6%, что существенно ниже, чем в почве углеотвала – 3,5% (рисунок 21). Внесение хелатора достоверно увеличивает содержание Сорг до 2,5% в черноземе и 4,2% в почве углеотвала. Увеличение содержания Сорг обусловлено с частичной дезагрегацией органического вещества на более мелкие, водорастворимые и, предположительно, минерализуемые фульвокислоты. Внесение микоризы, как активного гидролитика, способствующего процессу минерализации и перевода стабильной части органики в легкоокисляемые соединения, также обуславливает повышение содержания Сорг до 1,9% на черноземе и 3,8% в почве углеотвалов (Tipping, 2002). Сродство между органическими веществами и металлами может повлечь за собой установление связи между ними и снизить эффективность экстракции. Однако способность к комплексообразованию с природными органическими веществами неодинакова для всех металлов и в значительной степени связана со стабильностью вновь образующихся комплексов (Lian et al., 2022). В свою очередь гуминовые кислоты могут ингибировать извлечение ТМ вследствие прямой адсорбции металл-гуматных комплексов на минеральной поверхности

почвы. Депротонирование кислотных функциональных групп гуминовых кислот и увеличение количества низкомолекулярных органических соединений способствуют более полному извлечению ТМ растениями (Tipping, 2002).

Значение рН образцов чернозема обыкновенного и почв углеотвалов имеют нейтральную реакцию среды (7,6 и 7,3 соответственно) (рисунок 21). При внесении хелатора рН снижается до 7,2 в черноземе и 6,9 в почве углеотвалов. Значение рН может существенно влиять на состав и адсорбционно-десорбционное поведение металлов, а также на степень ионизации функциональных групп. Как органическая кислота, лимонная кислота может высвобождать ионы водорода за счет ионизации и изменять сродство почвы к ТМ за счет конкуренции протонов, поверхностного потенциала и плотности поверхностного заряда, таким образом, влиять на их подвижность (Tang et al., 2017). Однако, в условиях высокой буферности почв при малых изменениях рН, щелочные условия также пригодны для удаления ТМ за счет образования хелатных комплексов с лимонной кислотой при рН до 10, без образования гидроксидов (Hu et al., 2021). При внесении микоризы рН незначительно увеличивается, на варианте хелатор+микориза значения приближаются к контрольным. При проведении фиторемедиации загрязненной почвы не выявлено достоверного изменения в содержании карбонатов в условиях опыта (рисунок 21).

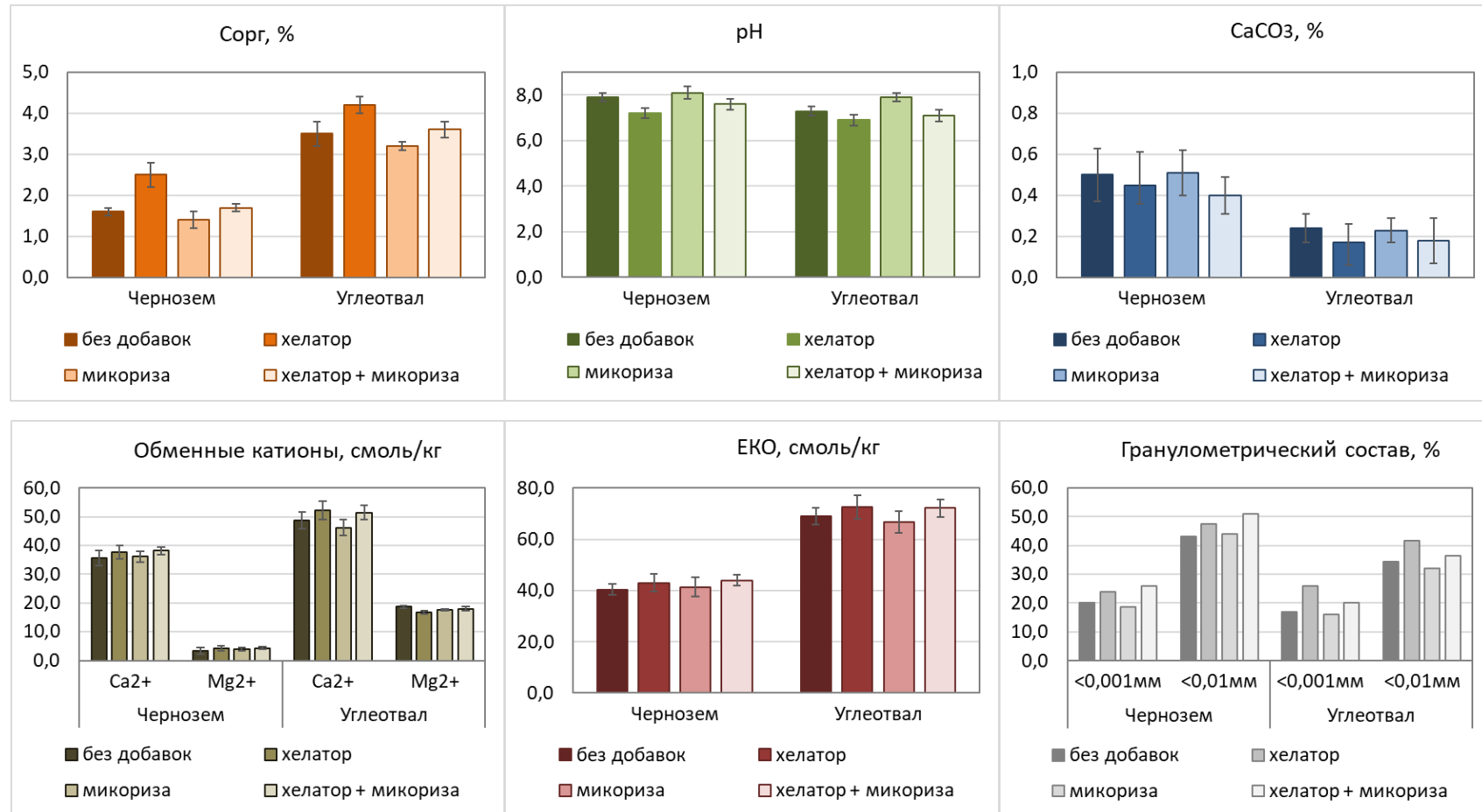


Рисунок 21 – Химические, физико-химические и физические свойства хемозема модельного вегетационного опыта

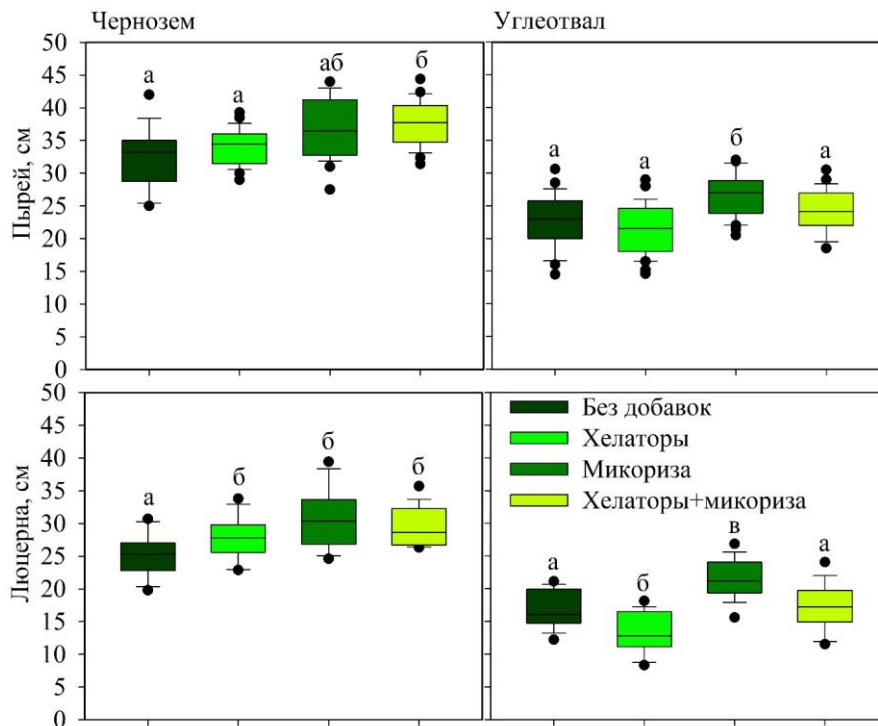
Значения ЕКО для исследуемых образцов чернозема составляет 40,3 смоль/кг, в почве углеотвала – 68,9 смоль/кг почвы (рисунок 21). В составе обменных оснований преобладает кальций. В результате внесения хелатора обнаруживается тенденция к увеличению значения ЕКО, в основном за счет увеличения содержания обменного кальция, обусловленное увеличением количества отрицательного заряда от депротонирования гидроксогрупп глины и органического вещества (Gluhar et al., 2020). Кальций является основным конкурентным катионом за места связывания хелатирующих агентов (Литвинович и др., 2018; Hu et al., 2021).

Гранулометрический состав чернозема и почвы углеотвалов по классификации Н.А. Качинского соответствует среднесуглинистой разновидности (содержание физической глины 43,2% и 34,4% соответственно) (рисунок 21). Степень насыщенности физической глины илом составляет 46-48% без добавок и 42-49% при внесении микоризы. Внесение хелаторов отдельно и совместно с микоризой незначительно увеличивает дисперсность, степень насыщенности физической глины илом составляет 50-62 и 50-55% соответственно. Это может связано с изменением плотности твердой фазы (Minkina et al., 2018), флокуляцией илистых частиц, изменением толщины двойного электрического слоя (Santamarina et al., 2001), образованием Ме-органических комплексов с катионами ТМ (Bauer et al., 2019).

Таким образом в ходе модельного эксперимента выявлено изменение окисляемости Сорг: при внесении хелатора увеличивается на 20-56%, при внесении микоризы снижается на 9-13%, при совместном внесении микоризы и хелатора содержание Сорг сопоставимо с контролем. В связи с изменением коллоидного состояния системы в анализе гранулометрического состава седиментационным методом при внесении микоризы совместно с лимонной кислотой в качестве хелатора содержание ила увеличивается. Для остальных показателей значимых различий не выявлено.

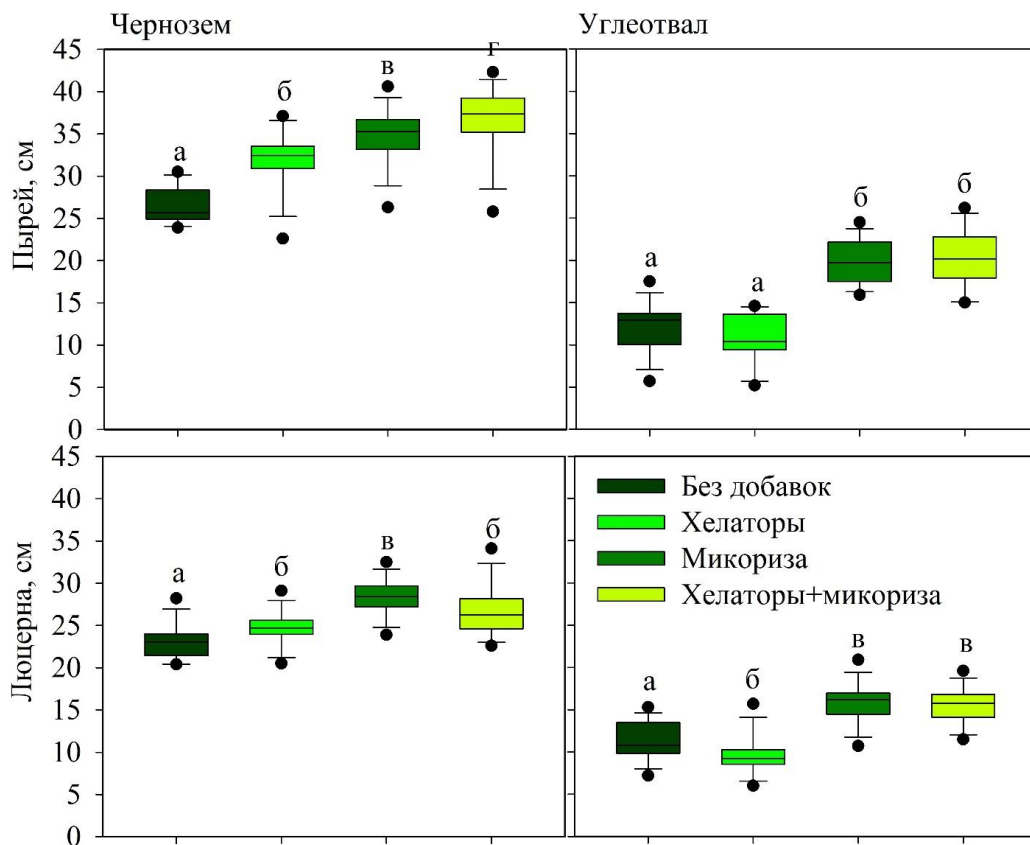
6.2 Влияние микоризации и хелатирующих агентов на морфометрические показатели дикорастущих травянистых растений при разном уровне загрязнения почв

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 (таблица 14). 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 (рисунки 22, 23).



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 22 – Длина побегов пырея и люцерны в модельном вегетационном опыте



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

Рисунок 23 – Длина корней пырея и люцерны в модельном вегетационном опыте

Таблица 14

Влияние уровня загрязнения, применения хелаторов, микорризы и их сочетания на длину побегов и корней пырея и люцерны

Фактор	F	p	F	p
	Побеги		Корни	
Уровень загрязнения	345.5	<0.01	1472.3	<0.01
Тип добавки	57.5	<0.01	83.1	<0.01
Тип растения	299.4	<0.01	147.2	<0.01
Уровень загрязнения*Тип добавки	7.4	<0.01	9.0	<0.01
Уровень загрязнения*Тип растения	17.3	<0.01	29.3	<0.01
Хелаторы-микорриза*Тип растения	16.9	<0.01	8.8	<0.01
Уровень загрязнения*Тип добавки*Тип растения	9.3	<0.01	1.4	0.247

У растений, произрастающих на почве углеотвала медианное содержание длины надземной и подземной частей ниже, чем у тест-культур контрольного варианта и составляет 23,0 см и 12,9 см у пырея и 16,1 см и 9,8 см - у люцерны. Применение хелаторов 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 (рисунок 24). Несмотря на значительное увеличение длины надземной и подземной частей растений под влиянием микоризы по отдельности или в сочетании с хелаторами морфобиометрические характеристики пырея и люцерны не соответствуют уровню контроля.

Влажная и сухая масса надземной части пырея на контрольном варианте составляет 35,0 г и 3,1 г, люцерны – 30,4 г и 2,6 г. Внесение хелатора отдельно и в сочетании с микоризой в почву контрольного варианта увеличивает сухую массу надземной части растений в 1,1 раз (рисунок 24). Вес подземной части пырея соответствует 20,7 г во влажном состоянии и 3,4 г в сухом, у люцерны 13,9 г и 1,7 г, соответственно. Наблюдается увеличение влажной и сухой массы корней растений. Наилучший эффект достигнут при использовании микоризы, где масса корней пырея и люцерны во влажном состоянии достигала 42,8 г и 36,0 г, в сухом состоянии – 6,7 г и 3,0 г, соответственно (рисунок 24, 25).

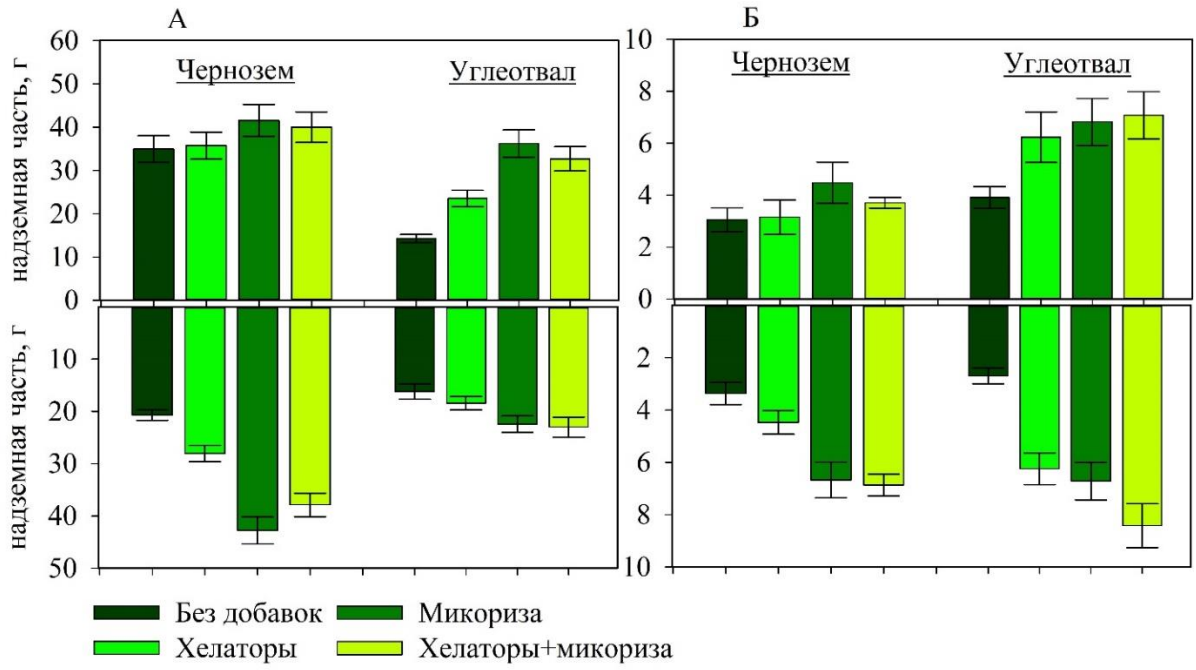


Рисунок 24 – Влажная (А) и сухая (Б) масса надземной и подземной частей пырея в модельном вегетационном опыте

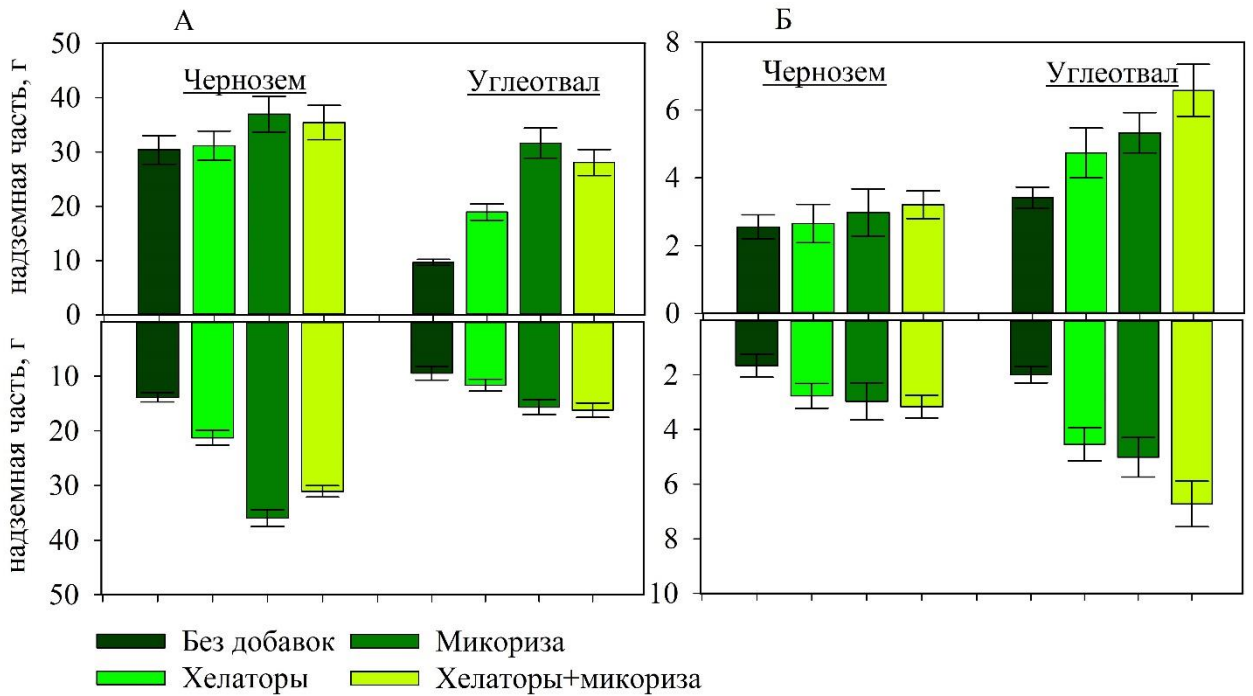


Рисунок 25 – Влажная (А) и сухая (Б) масса надземной и подземной частей люцерны в модельном вегетационном опыте

У растений, произрастающих на почве углеотвала, наблюдается снижение влажной массы надземной части в 1,7 раз, подземной части – в 1,3 раза и увеличение сухой массы надземной в 1,3 раза и подземной части - в 1,2 раза по отношению к контролю. При этом влажная масса надземной и подземной части пырея составляет 16,2 г и 14,3 г, люцерны – 9,4 г и 9,7 г, соответственно. Сухая масса пырея и люцерны достигает 3,9 г и 3,4 г в надземной части, 2,9 г и 2,0 г - в подземной. Применение хелатора и микоризы увеличивает влажную массу растений, произрастающих на почве углеотвала, до уровня контрольных значений в ряду: хелатор < микориза < хелатор и микориза. При этом 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.

6.3 Влияние микоризации и хелатирующих агентов на подвижность и в почвах и накопление ТМ и дикорастущих травянистых растениях

Общее содержание ТМ в почве контрольного варианта соответствовало фоновому содержанию данных металлов и не превышало значений ОДК. В загрязненной почве, подверженной влиянию углеотвалов шахты отмечается превышение значений ОДК.

Содержание ТМ в растениях, произрастающих на незагрязненной почве вегетационного опыта, находилось ниже максимально допустимого уровня (МДУ) содержания металлов в кормах сельскохозяйственных животных, за исключением Cr, содержание которого у пырея ползучего составляло 1.6-3.8 МДУ, а люцерны посевной – 6.0–13.4 МДУ (таблица 16, 17). Для пырея выявлен акропетальный тип распределения ТМ по органам растений в отличие от люцерны, для которой наибольшее накопление наблюдалось в надземных вегетативных органах, за исключением Mn. В целом, содержание ТМ в органах пырея на вариантах с незагрязненной почвой уменьшалось в ряду: Mn > Cu > Zn > Pb > Cr ≥ Ni > Cd. Установлено иное количественное

распределение в составе и содержании ТМ в органах люцерны: $Mn > Zn > Cu > Cr > Pb > Ni > Cd$.

У растений, произрастающих на почве углеотвала и при внесении различных добавок (микориза, хелатор), характер распределения ТМ по органам растений был идентичен контрольным вариантам (таблица 15 и 16). При этом содержание ТМ в надземных частях пырея превышало МДУ по Mn в 1.0-1.8 раз, Zn – 1.1-3.7 раз, Cu – 1.1-1.7 раз, Pb – 3.1-8.2 раз, Cr – 5.1-36.2 раз, Cd – 5.0-56.7 раз и по Ni – 10.0-57.5 раз. Распределение ТМ в органах пырея можно представить в виде убывающего ряда: $Mn > Zn > Cu > Ni > Pb > Cr > Cd$. Корни пырея ползучего характеризовались большим накоплением металлов по сравнению с люцерной, в то время как наблюдалась обратная закономерность по содержанию ТМ в надземных частях растений. Так, содержание ТМ в надземных частях люцерны превышало МДУ по Mn в 1.4-2.3 раз, Zn – 1.7-4.8 раз, Cu – 1.7-4.3 раз, Pb – 7.5-22.9 раз, Cr – 118-290 раз, Cd – 21.0-100.3 раз и по Ni – 19.8-85.5 раз. Характер распределения ТМ в органах люцерны, произрастающей на хемоземе, идентичен контрольным вариантам, за исключением преобладания Cr по сравнению с Cu.

Содержание ТМ в органах пырея ползучего (*Elytrigia repens*), мг/кг

Варианты	Часть растения	Mn	Zn	Cd	Ni	Pb	Cu	Cr
Чернозем	стебель	26,0±1,4	8,2±0,5	0,04±0,003	0,36±0,02	1,5±0,1	11,8±0,6	0,42±0,03
	корень	54,6±3,3	13,6±0,9	0,08±0,005	2,64±0,17	1,9±0,1	15,2±0,9	1,52±0,10
Чернозем + хелатор	стебель	34,1±2,4	15,2±0,8	0,13±0,007	0,29±0,02	3,2±0,2	12,6±0,8	1,61±0,10
	корень	83,8±4,7	20,8±1,3	0,33±0,018	3,77±0,19	7,5±0,5	25,8±1,3	2,32±0,16
Чернозем + хелатор	стебель	39,3±2,2	7,9±0,5	0,02±0,001	0,58±0,04	2,1±0,1	10,7±0,7	0,81±0,05
	корень	86,4±4,8	14,4±0,9	0,20±0,013	3,54±0,19	5,3±0,3	23,4±1,4	3,00±0,19
Чернозем + хелатор + микориза	стебель	65,4±3,4	18,3±1,0	0,28±0,017	0,70±0,04	4,6±0,3	15,0±0,9	1,88±0,13
	корень	95,2±6,4	21,0±1,1	0,45±0,031	5,49±0,38	9,8±0,5	36,1±1,9	4,30±0,22
Хемозем	стебель	222,3±11,6	53,3±3,5	1,5±0,09	10,0±0,5	15,6±1,1	33,9±2,2	2,6±0,14
	корень	520,4±27,1	104,3±5,7	5,9±0,4	32,5±2,2	38,7±1,9	83,2±5,7	10,0±0,7
Хемозем + хелатор	стебель	251,6±16,9	83,5±4,6	8,4±0,5	21,0±1,2	27,5±1,4	46,4±3,0	7,8±0,4
	корень	875,6±56,9	211,1±11,0	11,9±0,8	76,6±4,4	60,0±3,6	102,7±6,0	23,7±1,3
Хемозем + микориза	стебель	251,4±15,1	63,9±3,9	3,1±0,2	15,5±0,9	19,4±1,3	42,4±2,3	3,5±0,2
	корень	641,8±34,0	135,8±9,2	9,3±0,6	48,6±3,0	45,5±3,1	90,7±5,6	15,7±1,0
Хемозем + хелатор + микориза	стебель	387,9±27,2	156,6±7,8	17,0±0,9	57,5±3,0	40,9±2,6	51,8±2,9	18,1±1,1
	корень	1050,1±69,3	276,6±16,6	25,1±1,6	138,3±7,2	87,3±5,2	135,6±7,6	45,6±2,7

Содержание ТМ в органах люцерны посевной (*Medicago sativa*), мг/кг

Варианты	Часть растения	Mn	Zn	Cd	Ni	Pb	Cu	Cr
Чернозем	стебель	57,1±3,3	17,6±1,1	0,12±0,007	0,30±0,018	2,7±0,2	8,5±0,6	3,00±0,2
	корень	62,8±3,5	14,9±0,9	0,08±0,004	0,40±0,022	1,8±0,1	5,9±0,3	3,30±0,2
Чернозем + хелатор	стебель	78,4±5,0	25,2±1,5	0,25±0,017	0,75±0,038	3,5±0,2	9,1±0,6	5,30±0,3
	корень	91,6±6,2	19,7±1,3	0,13±0,007	0,48±0,032	3,0±0,2	8,0±0,6	4,40±0,3
Чернозем + хелатор	стебель	70,5±4,4	20,4±1,2	0,12±0,006	0,60±0,038	3,1±0,2	8,7±0,5	3,20±0,2
	корень	82,3±4,4	18,2±1,0	0,10±0,006	0,50±0,034	2,2±0,1	7,6±0,5	3,10±0,2
Чернозем + хелатор + микориза	стебель	126,2±8,3	32,1±2,0	0,35±0,022	0,90±0,047	4,6±0,3	18,2±1,0	6,70±0,4
	корень	131,7±8,7	25,4±1,7	0,15±0,008	0,69±0,035	5,3±0,3	11,9±0,8	4,30±0,3
Хемозем	стебель	308,9±21,6	84,8±4,4	6,3±0,4	19,8±1,2	37,5±2,2	49,8±2,9	59,0±3,9
	корень	251,1±14,1	32,6±2,2	4,2±0,2	10,5±0,6	20,2±1,1	13,6±0,8	32,0±1,9
Хемозем + хелатор	стебель	544,9±37,1	150,1±8,6	15,2±0,9	48,8±2,5	69,3±4,6	85,7±5,1	101,0±5,3
	корень	304,8±18,6	66,5±3,7	8,5±0,6	17,5±0,9	34,1±1,9	30,3±1,6	46,0±2,3
Хемозем + микориза	стебель	347,6±20,9	96,3±6,1	13,4±0,8	22,3±1,1	30,5±1,9	50,4±2,6	74,5±4,3
	корень	276,2±14,9	40,5±2,6	6,6±0,4	12,4±0,8	23,7±1,4	18,6±1,1	39,0±2,6
Хемозем + хелатор + микориза	стебель	506,3±32,9	238,7±14,3	30,1±1,8	85,5±5,8	114,5±6,0	129,5±6,7	145,0±10,2
	корень	417,4±25,5	124,7±6,5	12,0±0,7	42,1±2,7	50,5±3,1	37,2±2,3	57,0±3,4

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 (таблица 17). 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 13.8 кг/га, а для пырея – 3.7 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).

Вынос ТМ надземной частью растениями в модельном опыте, кг/га

Варианты опыта	Mn		Zn		Cd		Ni		Pb		Cu		Cr		Суммарный вынос	
	<i>E. repens</i>	<i>M. sativa</i>	<i>E. repens</i>	<i>M. sativa</i>	<i>E. repens</i>	<i>M. sativa</i>	<i>E. repens</i>	<i>M. sativa</i>	<i>E. repens</i>	<i>M. sativa</i>	<i>E. repens</i>	<i>M. sativa</i>	<i>E. repens</i>	<i>M. sativa</i>	<i>E. repens</i>	<i>M. sativa</i>
Чернозем	0.13	0.63	0.04	0.19	0.001	0.001	0.002	0.003	0.008	0.03	0.06	0.09	0.002	0.03	0.24	0.98
Чернозем + хелатор	0.17	0.86	0.08	0.28	0.001	0.003	0.001	0.008	0.016	0.04	0.06	0.10	0.008	0.06	0.34	1.35
Чернозем + микориза	0.20	0.78	0.04	0.22	0.001	0.001	0.003	0.007	0.010	0.03	0.05	0.10	0.004	0.04	0.31	1.17
Чернозем + хелатор + микориза	0.33	1.39	0.09	0.35	0.001	0.004	0.004	0.010	0.023	0.05	0.08	0.20	0.009	0.07	0.53	2.08
Хемозем	1.11	3.40	0.27	0.93	0.01	0.07	0.05	0.22	0.08	0.41	0.17	0.55	0.01	0.65	1.70	6.23
Хемозем + хелатор	1.26	5.99	0.42	1.65	0.04	0.17	0.11	0.54	0.14	0.76	0.23	0.94	0.04	1.11	2.23	11.17
Хемозем + микориза	1.26	3.82	0.32	1.06	0.02	0.15	0.08	0.25	0.10	0.34	0.21	0.55	0.02	0.82	2.00	6.99
Хемозем + хелатор + микориза	1.94	5.57	0.78	2.63	0.09	0.33	0.29	0.94	0.20	1.26	0.26	1.42	0.09	1.60	3.65	13.75

6.4 Комплексная оценка эффективности применения индуцированной биоремедиации на техногенно загрязненной почве с использованием биогеохимических показателей

В незагрязненном черноземе миграционно-сегрегационном контрольного варианта коэффициент накопления (КН), отражающий поступление металлов из почвы в корни растений и их способность к фитостабилизации, показывает безбарьерное поступление в корни пырея ползучего эссенциальных элементов, таких как Zn (КН=1,2) и Cu (КН=3,9), в то время как КН для Mn, Cd, Ni, Pb и Cr меньше 1 (таблица 18), что свидетельствует о наличии физиологических барьеров, препятствующих поступлению потенциально токсичных элементов в растения. Для люцерны посевной наблюдаются аналогичный уровень КН (таблица 19). Внесение в незагрязненную почву хелатора и микоризы, как совместно, так и отдельно, приводит к увеличению транслокации металлов в корни растений, особенно Cd, Pb и Cu (для пырея КН 2,5, 2,0 и 4,9, соответственно), что подтверждает повышение фитостабилизационного потенциала пырея.

Таблица 18

Коэффициент накопления (КН) металлов в пырее ползучем модельного вегетационного опыта

Варианты опыта	Mn	Zn	Cd	Ni	Pb	Cu	Cr
Чернозем	0,4	1,2	0,8	0,5	0,8	3,9	0,2
Чернозем + хелатор	0,5	1,1	2,1	0,4	1,7	5,1	0,2
Чернозем + микориза	0,5	0,8	1,2	0,5	1,1	4,4	0,2
Чернозем + хелатор + микориза	0,5	0,9	2,5	0,5	2,0	4,9	0,2
Хемозем	0,6	1,4	6,7	0,7	2,8	3,7	0,5
Хемозем + хелатор	0,8	1,4	8,8	1,2	3,0	2,4	0,7
Хемозем + микориза	0,5	0,9	7,0	0,7	2,4	2,1	0,5
Хемозем + хелатор + микориза	0,8	1,7	15,8	2,0	3,7	3,0	1,2

Коэффициент накопления (КН) металлов в люцерне посевной
 модельного вегетационного опыта

Варианты опыта	Mn	Zn	Cd	Ni	Pb	Cu	Cr
Чернозем	0,5	1,3	0,8	0,1	0,8	1,5	0,4
Чернозем + хелатор	0,6	1,0	0,8	0,1	0,7	1,6	0,3
Чернозем + микориза	0,5	1,0	0,6	0,1	0,5	1,4	0,2
Чернозем + хелатор + микориза	0,7	1,1	0,8	0,1	1,1	1,6	0,2
Хемозем	0,3	0,4	4,7	0,2	1,5	0,6	1,7
Хемозем + хелатор	0,3	0,4	6,3	0,3	1,7	0,7	1,3
Хемозем + микориза	0,2	0,3	5,0	0,2	1,2	0,4	1,1
Хемозем + хелатор + микориза	0,3	0,8	7,6	0,6	2,1	0,8	1,5

В почве террикона отмечается увеличение величины КН пырея для таких токсичных элементов как Cd и Pb до 6,7 и 2,8, а для люцерны КН Cd до 4.7 и Pb до 1.5 (таблица 19, 20). На вариантах с внесением хелатора и микоризы совместно и отдельно увеличивается транслокация металлов в корни растений, КН превышает 1, особенно пырея: КН Mn 0.8 < Cr 1.2 < Zn 1.7 < Cu 3.0 < Pb 3.7 < Ni 2.0 < Cd 15.8, что подтверждает поступления металлов в корни растений и эффективность приемов 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. Так растения люцерны семейства Fabaceae характеризуются высоким фитоэкстракционным потенциалом по отношению к ТМ, особенно при внесении симбиотической микоризы в почву, тогда как пырей семейства Мятликовые обладают высокими фитостабилизационными характеристиками, то есть накоплением металлов в корневой системе.

Транслокацию металлов из корней в стебли растений отражает акропетальный коэффициент (АК), увеличение которого подтверждает эффективность индукционной фитоэкстракции (таблица 20 и 21). 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 физиологических барьеров, препятствующих поступлению металлов из корней в стебли пырея (Hussain et al., 2024; Wan et al., 2024). 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.

Таблица 20

Акропетальный коэффициент (АК) металлов в пырее ползучем модельного вегетационного опыта

Варианты опыта	Mn	Zn	Cd	Ni	Pb	Cu	Cr
Чернозем	0,5	0,6	0,5	0,1	0,8	0,8	0,3
Чернозем + хелатор	0,4	0,7	0,4	0,1	0,4	0,5	0,7
Чернозем + микориза	0,5	0,5	0,1	0,2	0,4	0,5	0,4
Чернозем + хелатор + микориза	0,7	0,9	0,6	0,1	0,5	0,4	0,4
Хемозем	0,4	0,5	0,3	0,3	0,4	0,4	0,3
Хемозем + хелатор	0,3	0,4	0,7	0,3	0,5	0,5	0,3
Хемозем + микориза	0,4	0,5	0,3	0,3	0,4	0,5	0,2
Хемозем + хелатор + микориза	0,4	0,6	0,7	0,4	0,5	0,4	0,4

Акропетальный коэффициент (АК) металлов в люцерне посевной
 модельного вегетационного опыта

Варианты опыта	Mn	Zn	Cd	Ni	Pb	Cu	Cr
Чернозем	0,9	1,2	1,5	0,8	1,5	1,4	0,9
Чернозем + хелатор	0,9	1,3	1,9	1,6	1,2	1,1	1,2
Чернозем + микориза	0,9	1,1	1,2	1,2	1,4	1,1	0,5
Чернозем + хелатор + микориза	1,0	1,3	2,3	1,3	0,9	1,5	1,6
Хемозем	1,2	2,6	1,5	1,9	1,9	3,7	1,8
Хемозем + хелатор	1,8	2,3	1,8	2,0	2,0	2,8	2,2
Хемозем + микориза	1,3	2,4	2,0	1,8	1,3	2,7	1,9
Хемозем + хелатор + микориза	1,2	1,9	2,5	2,0	2,3	3,5	2,5

В растениях люцерны наблюдается накопление металлов в стеблях, как на вариантах с черноземом: АК Ni 0,8 < Mn, Cr 0,9 < Zn 1,2 < Cu 1,4 < Cd, Pb 1,5; так и с почвой террикона: 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: на варианте с черноземом, микоризой и хелатора АК увеличивается до Pb 0,9 < Mn 1,0 < Ni, Zn 1,3 < Cu 1,5 < Cr 1,6 < Cd 2,3; на варианте с почвой террикона, микоризой 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 и фитоэкстракционного потенциала пырея и люцерны по отношению к таким высокотоксичным элементам как Cd и Pb.

Установлено, что при внесении лимонной кислоты в хемозем общая численность аммонификаторов достоверно не изменяется (рисунок 27). Внесение препарата микоризы в хемозем 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. Это можно объяснить стимулирующим действием микоризации на рост и развитие корней, увеличение объема корневых выделений, что привело к увеличению численности бактерий (Shabani et al., 2016). Близкие результаты были получены и в других исследованиях, показывающих, что внесение микоризных грибов изменяет состав микробного сообщества ризосферы (Kohler et al., 2016; Monokrousos et al., 2019). Совместное внесение микоризного препарата и хелатирующего агента в хемозем привело к менее выраженному росту численности бактерий до $117,2 \pm 0,6 \cdot 10^6$ КОЕ г^{-1} сух.почвы. Можно сделать вывод о том, что индуцированная фиторемедиация не снижает численность бактерий в почвах.

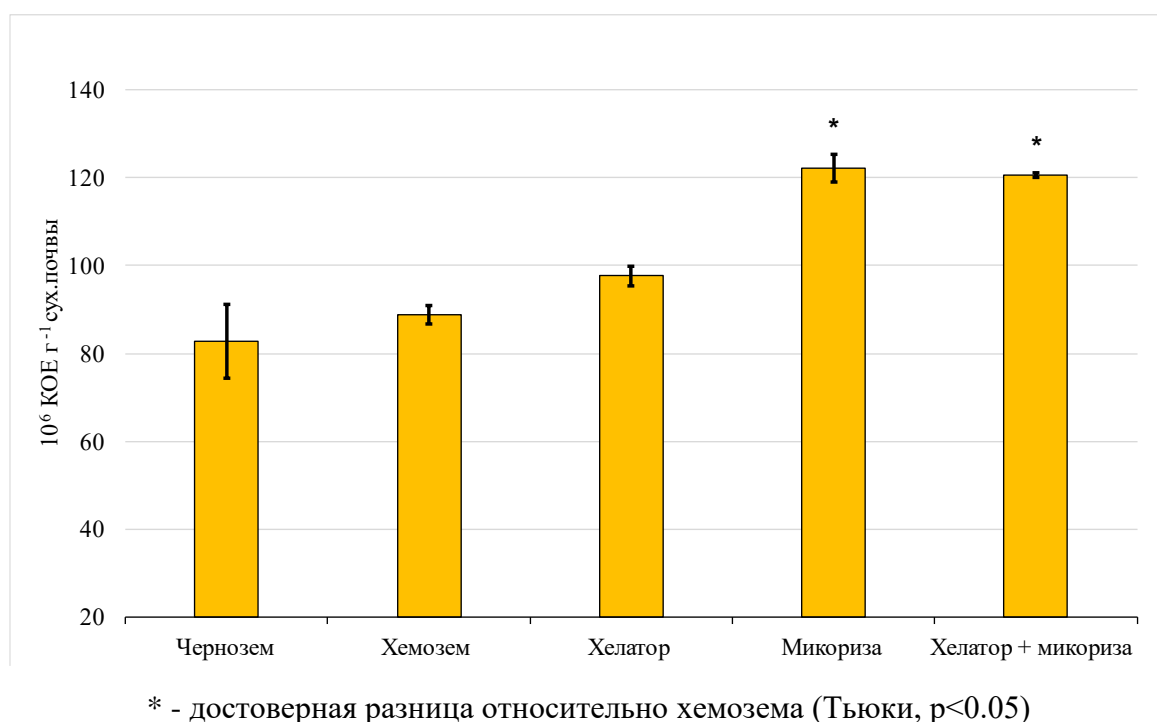


Рисунок 26 - Численность аммонификаторов в почвах при воздействии различных факторов индуцированной фиторемедиации

В целом полученные результаты позволяют сделать вывод о возможности и перспективности использования пырея ползучего и люцерны посевной в комплексе с лимонной кислотой и микоризой в восстановлении загрязненных ТМ почв углеотвалов.

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, в меньшей степени влияют на эффективность фиторемедиации. 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 r-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. В целом, использование *E. repens*, и *M. sativa* в сочетании с лимонной кислотой является перспективным подходом для фиторемедиации загрязненных ТМ почв угольных отвалов.

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 фиторемедиационного 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⁻¹ сух.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⁻¹ сух.почвы.

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

КН – коэффициент накопления

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

ПАУ – полициклические ароматические углеводороды

ТМ – тяжелые металлы

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Андреюк Е. И., Валагурова Е. В.* Основы экологии почвенных микроорганизмов. Киев: Наукова думка, 1992. 224 с.
2. *Аристовская Т. В.* Микробиология процессов почвообразования. Москва: Наука, 1980. 187 с.
3. *Артамонова В. С., Бортникова С. Б.* Экологические аспекты рекультивации почв на отвалах вскрышных пород в районах угледобычи // Антропогенная трансформация природной среды. 2022а. Т. 8. № 1. С. 48–57. <https://doi.org/10.17072/2410-8553-2022-1-48-57>.
4. *Артамонова В. С., Бортникова С. Б.* Биогеохимическая характеристика корнеобитаемого слоя травянистых растений на рекультивированных участках техногенных отходов // Вестник Пермского Университета. Серия: Биология. 2022б. № 2. С. 155–163. <https://doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-155-163>.
5. *Арчегова И. Б.* Некоторые аспекты теоретического определения почв // Biological Communications. 2015. № 1. С. 98–103.
6. *Бакытжанкызы Б. Т., Джакановна А. А., Аскеровна С. Г., Турсынбаевна С. К.* Влияние вермикомпоста на трансформацию и транслокацию тяжелых металлов в грунтах и в системе «почва-растение» // Почвоведение и агрохимия. 2025. № 1. С. 28–38.
7. *Безуглова О. С., Хырхырова М. М.* Почвы Ростовской области. Ростов-на-Дону: Изд-во Южного федерального ун-та, 2008. 350 с.
8. *Вальков В. Ф., Казеев К. Ш., Колесников С. И.* Экология почв: Учебное по-собие для студентов вузов. Часть 3. Загрязнение почв. Ростов-на-Дону: УПЛ РГУ, 2004. 54 с.
9. *Водяницкий Ю. Н.* Тяжелые металлы и металлоиды в почвах. М.: , 2008. 85 с.
10. *Водяницкий Ю. Н.* Загрязнение почв тяжелыми металлами и металлоидами и их экологическая опасность (аналитический обзор) //

- Почвоведение. 2013. № 7. С. 872–881.
<https://doi.org/10.7868/S0032180X13050171>.
11. *Водяницкий Ю. Н., Плеханова И. О., Прокопович Е. В., Савичев А. Т.* Загрязнение почв выбросами предприятий цветной металлургии // Почвоведение. 2011. № 2. С. 240–249.
 12. *Воеводина Л. А., Воеводин О. В.* Магний для почвы и растений // Мелиорация и гидротехника. 2015. № 2 (18). С. 70–81.
 13. *Воробьев А. Е., Портнов В. С., Маусымбаева А. Д., Бекетова М. С.* Изменение качества углепородной массы в терриконах // Труды Университета. 2016. № 3 (64). С. 61–65.
 14. *Воробьева Л. А.* Теория и практика химического анализа почв. Москва: ГЕОС, 2006. 400 с.
 15. ГОСТ 17.4.4.02-2017 Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа. – 9 с.
 16. ГОСТ 26423–85 Методы определения удельной электрической проводимости, рН и плотного остатка водной вытяжки. – 8 с.
 17. ГОСТ Р 52325-2005 Семена сельскохозяйственных растений. Сортные и посевные качества. Общие технические условия.
 18. ГОСТ Р ИСО 22030-2009 Качество почвы. Биологические методы. Хроническая фитотоксичность в отношении высших растений.
 19. *Григорьев Н. А.* Распределение химических элементов в верхней части континентальной коры. Екатеринбург: Издательство УРО РАН, 2009. 382 с.
 20. *Грин Н., Стаут У., Тэйлор Б.* Биология / под ред. Р. Сопер. Москва: Изд-во АН СССР, 1952. 792 с.
 21. *Двуреченский В. Г.* Трансформация морфологических свойств почв Горловского угольного бассейна под воздействием антропогенеза // Живые и биокосные системы. 2020. № 31. <https://doi.org/10.18522/2308-9709-2020-31-3>.

22. *Двуреченский В. Г., Андроханов В. А.* Почвенно-экологическое состояние техногенных ландшафтов Новокузнецкого промышленного комплекса // Живые и биокосные системы. 2017. № 20. <https://doi.org/10.18522/2308-9709--20-3>.
23. *Докучаев В. В.* Русский чернозём: [Отчёт Вольному экономическому обществу]. СПб.: Изд-во Русская коллекция, 2008. 473 с.
24. *Домрачева Л. И., Скугорева С. Г., Ковина А. Л., Малинина А. И., Стариков П. А., Ашихмина Т. Я.* Специфика растительно-микробных комплексов при антропогенном загрязнении почвы (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2022. № 3. С. 14–25. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2022-3-014-025>.
25. *Жуков С. П.* К методике определения организации и устойчивости фитоценозов в ходе их развития на отвалах угольных шахт // Промышленная Ботаника. 2012. Т. 12. С. 19–24.
26. *Замотаев И. В., Иванов И. В., Михеев П. В., Белобров В. П.* Трансформация и загрязнение почв в районах добычи железных руд (обзор литературы) // Почвоведение. 2017. № 3. С. 370–384. <https://doi.org/10.7868/S0032180X17030121>.
27. *Замулина И. В., Минкина Т. М., Константинова Е. Ю., Невидомская Д. Г., Литвинов Ю. А., Манджиева С. С., Бауэр Т. В.* Физические и химические свойства почв и техногенных поверхностных образований породных отвалов территорий угледобычи Ростовской области // Вестник Московского университета. Серия 17. Почвоведение. 2024. № 4. С. 157–169. <https://doi.org/10.55959/MSU0137-0944-17-2024-79-4-157-169>.
28. *Зубова Л. Г., Зубов А. Р., Зубов А. А.* Лесная рекультивация терриконов // Экологический Вестник Северного Кавказа. 2020. Т. 16. № 3. С. 64–73.
29. *Зубова Л. Г., Зубов А. Р., Зубов А. А., Харламова А. В., Воробьёв С. Г., Макаришина Ю. И., Буняченко В. В.* Терриконы. Луганск: Изд-во «Ноулидж», 2015. 712 с.

30. *Ковязин В. Ф.* Динамика агрохимических свойств почв Санкт-Петербурга // Плодородие. 2008. № 3. С. 34–36.

31. *Константинова Е. Ю., Невидомская Д. Г., Манджиева С. С., Барахов А. В., Минкина Т. М.* Уровень моно- и полиэлементного загрязнения антропогенно-нарушенных почв Восточного Донбасса // СТЕПНАЯ ЕВРАЗИЯ - УСТОЙЧИВОЕ РАЗВИТИЕ. Ростов-на-Дону: Южный федеральный университет, 2022. С. 55–58.

32. *Копцик Г. Н.* Современные подходы к ремедиации почв, загрязненных тяжелыми металлами (обзор литературы) // Почвоведение. 2014. № 7. С. 851–868. <https://doi.org/10.7868/S0032180X14070077>.

33. *Кулагина В. И., Сунгатуллина Л. М., Тагиров Р. М., Рязанов С. С., Хисамова А. М.* Выбор микробиологических показателей для выполнения интегральной эколого-биологической оценки почв при переувлажнении // Принципы экологии. 2019. № 4 (34). С. 45–56. <http://dx.doi.org/10.15393/j1.art.2019.9262>.

34. *Литвинович А. В., Лаврищев А. В., Буре В. М., Павлова О. Ю., Ковлева А. О.* Динамика содержания обменных катионов кальция и магния в дерново-подзолистой легкосуглинистой почве, мелиорируемой различными по размеру фракциями доломита (эмпирические модели процесса подкисления) // Агрохимия. 2018. № 3. С. 50–61. <https://doi.org/10.7868/S0002188118030079>.

35. Методы почвенной микробиологии и биохимии: Учеб. пособие / под ред. Д. Г. Звягинцев. Москва: Изд-во МГУ, 1991. 304 с.

36. *Минеев В. Г., Сычев В. Г., Амелянчик О. А., Большева Т. Н., Гомонова Н. Ф., Пахненко Е. П., Егоров В. С., Егорова Е. В., Едемская Н. Л., Карпова Е. А., Прижукова В. Г.* Практикум по агрохимии. Москва: Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (Издательский Дом (Типография), 2001. 689 с.

37. *Мишустин Е. Н.* Микроорганизмы и плодородие почвы. Москва: Изд-во АН СССР, 1956. 246 с.

38. *Морозов И. В., Безуглова О. С.* Классификации элементарных почвенных частиц в разных школах почвоведения // 2011. № 12. С. 281–285.

39. *Муратова А. Ю., Бондаренкова А. Д., Панченко Л. В., Турковская О. В.* Использование комплексной фиторемедиации для очистки почвы, загрязненной нефтешламом // Биотехнология. 2010. № 1. С. 77–84.

40. ПНД Ф 16.1.42-04, 2010. Методика выполнения измерений массовой доли металлов и оксидов металлов в порошковых пробах почв методом рентгенофлуоресцентного анализа.

41. СанПиН 1.2.3685-1. «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания». , 2021.

42. *Сизенцов А. Н., Сальникова Е. В.* Бактериальная ремидиация и перспективы ее использования (обзор) // Экосистемы. – 2024. – №. 38. – С. 150-165.

43. *Соколова Т. А., Толпешта И. И., Трофимов С. Я.* Почвенная кислотность. Кислотно-основная буферность почв. Соединения алюминия в твердой фазе почвы и почвенном растворе. Тула: Гриф и К, 2012. 124 с.

44. *Солнцева Н. П., Рубилина Н. Е.* Морфология почв, трансформированных при угледобыче // Почвоведение. 1987. № 2. С. 104–108.

45. Технологии реабилитации объектов накопленного вреда окружающей среде с получением потенциально плодородного грунта / *Е. И. Тихомирова, А. В. Кошелев, О. В. Атаманова, В. Ф. Головков* // Технологии переработки отходов с получением новой продукции : Материалы VI Всероссийской научно-практической конференции, Киров, 18–19 ноября 2024 года. – Киров: Вятский государственный университет, 2024. – С. 172-178.

46. *Торохова О. Н., Агурова И. В.* Оценка пригодности пород промышленных отвалов Донбасса для произрастания растений // Промышленная Ботаника. 2008. № 8. С. 12–16.

47. *Туровский Д. Э., Любская О. Г.* Угольные предприятия как источник негативного воздействия на окружающую среду // Международный

журнал гуманитарных и естественных наук. 2023. № 5– 4 (80). С. 30–34.
<https://doi.org/10.24412/2500-1000-2023-5-4-30-34>.

48. *Фишкин М. В.* О состоянии окружающей среды и природных ресурсов Ростовской области в 2024 году. Ростов-на-Дону: Министерство природных ресурсов и экологии Ростовской области, ООО «Альтаир», 2025. 370 с.

49. *Ahn B.-E., Cha J., Lee E.-J., Han A.-R., Thompson C. J., Roe J.-H.* Nur, a nickel-responsive regulator of the Fur family, regulates superoxide dismutases and nickel transport in *Streptomyces coelicolor* // *Molecular microbiology*. 2006. V. 59. № 6. P. 1848–1858. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05065.x>.

50. *Akbar F. M., Zafar M., Hamid A., Ahmed M., Khaliq A., Khan M. R., Rehman Z. ur.* Interactive effect of cobalt and nitrogen on growth, nodulation, yield and protein content of field grown pea // *Hortic. Environ. Biotechnol*. 2013. V. 54. № 6. P. 465–474. <https://doi.org/10.1007/s13580-013-0001-6>.

51. *Alef K., Nannipieri P.* Methods in applied soil microbiology and biochemistry. London San Diego: Academic Press, 1995. 310 с.

52. *Alekseenko V. A., Bech J., Alekseenko A. V., Shvydkaya N. V., Roca N.* Environmental impact of disposal of coal mining wastes on soils and plants in Rostov Oblast, Russia // *Journal of Geochemical Exploration*. 2018. V. 184. P. 261–270. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2017.06.003>.

53. *Alengebawy A., Abdelkhalek S. T., Qureshi S. R., Wang M.-Q.* Heavy Metals and Pesticides Toxicity in Agricultural Soil and Plants: Ecological Risks and Human Health Implications // *Toxics*. 2021. V. 9. № 3. P. 42. <https://doi.org/10.3390/toxics9030042>.

54. *Aliyari Rad S., Nobaharan K., Pashapoor N., Pandey J., Dehghanian Z., Senapathi V., Minkina T., Ren W., Rajput V. D., Asgari Lajayer B.* Nano-Microbial Remediation of Polluted Soil: A Brief Insight // *Sustainability*. 2023. V. 15. № 1. P. 876. <https://doi.org/10.3390/su15010876>.

55. *Alperovitch N., Shainberg I., Keren R.* Specific effect of magnesium on the hydraulic conductivity of sodic soils // *European Journal of Soil Science*. 2006. V. 32. № 7. P. 543–554. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1981.tb01728.x>.
56. *Al-Qahtani K. M. A.* Extraction Heavy Metals from Contaminated, Water using Chelating Agents // *Oriental Journal of Chemistry*. 2017. V. 33. № 4. P. 1698–1704. <https://doi.org/10.13005/ojc/330414>.
57. *Amjad M. A., Wadood H. Z., Abbas Q., Afzal I.* Optimization of cobalt biosorption and stress alleviation ability of plant beneficial endophytic bacteria on tomato seeds germination // *The Journal Of Microbiology And Molecular Genetics*. 2023. V. 4. № 2. P. 63–79.
58. *Arantza S.-J., Hiram M.-R., Erika K., Chávez-Avilés M. N., Valiente-Banuet J. I., Fierros-Romero G.* Bio- and phytoremediation: plants and microbes to the rescue of heavy metal polluted soils // *SN Appl. Sci*. 2022. V. 4. № 2. P. 59. <https://doi.org/10.1007/s42452-021-04911-y>.
59. *Araújo J. do C. T. de, Nascimento C. W. A. do.* Phytoextraction of Lead from Soil from a Battery Recycling Site: The Use of Citric Acid and NTA // *Water Air Soil Pollut*. 2010. V. 211. № 1. P. 113–120. <https://doi.org/10.1007/s11270-009-0285-4>.
60. *Awa S. H., Hadibarata T.* Removal of Heavy Metals in Contaminated Soil by Phytoremediation Mechanism: a Review // *Water Air Soil Pollut*. 2020. V. 231. № 2. P. 47. <https://doi.org/10.1007/s11270-020-4426-0>.
61. *Bakker P. A. H. M., Pieterse C. M. J., Jonge R. de, Berendsen R. L.* The Soil-Borne Legacy // *Cell*. 2018. V. 172. № 6. P. 1178–1180. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.02.024>.
62. *Barbosa É. S., Cacique A. P., Pinho G. P. de, Silvério F. O.* *Catharanthus roseus* potential for phyto-stabilizing metals in sewage sludge // *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 2020. V. 55. № 3. P. 209–215. <https://doi.org/10.1080/10934529.2019.1680059>.
63. *Barsova N., Yakimenko O., Tolpeshta I., Motuzova G.* Current state and dynamics of heavy metal soil pollution in Russian Federation—A review //

Environmental Pollution. 2019. V. 249. P. 200–207.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.020>.

64. *Bashkin V. N., Galiulina R. A.* Accumulation of Heavy Metals in Vegetable Crops // Russ. Agricult. Sci. 2022. V. 48. № 1. P. S164–S173.
<https://doi.org/10.3103/S1068367422070035>.

65. *Bauddh K., Singh K., Singh B., Singh R. P.* *Ricinus communis*: A robust plant for bio-energy and phytoremediation of toxic metals from contaminated soil // Ecological Engineering. 2015. V. 84. P. 640–652.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.09.038>.

66. *Bauer T., Minkina T., Pinskii D., Zamulina I., Mandzhieva S., Nevidomskaya D., Burachevskaya M.* Soil physical and chemical properties changes after zinc contamination // Biological Communications. 2019. V. 64. № 1. P. 46–54.
<https://doi.org/10.21638/spbu03.2019.106>.

67. *Belimov A. A., Dietz K.-J.* Effect of associative bacteria on element composition of barley seedlings grown in solution culture at toxic cadmium concentrations // Microbiological Research. 2000. V. 155. № 2. P. 113–121.
[https://doi.org/10.1016/S0944-5013\(00\)80046-4](https://doi.org/10.1016/S0944-5013(00)80046-4).

68. *Bempah C. K., Ewusi A.* Heavy metals contamination and human health risk assessment around Obuasi gold mine in Ghana // Environ Monit Assess. 2016. V. 188. № 5. P. 261. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5241-3>.

69. *Blagodatskaya E., Kuzyakov Y.* Active microorganisms in soil: Critical review of estimation criteria and approaches // Soil Biology and Biochemistry. 2013. V. 67. P. 192–211. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.08.024>.

70. *Boro M., Sannyasi S., Chettri D., Verma A. K.* Microorganisms in biological control strategies to manage microbial plant pathogens: a review // Arch Microbiol. 2022. V. 204. № 11. P. 666. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03279-w>.

71. *Brengi S. H., Moubarak M., El-Naggar H. M., Osman A. R.* Promoting salt tolerance, growth, and phytochemical responses in coriander (*Coriandrum*

sativum L. cv. Balady) via eco-friendly *Bacillus subtilis* and cobalt // *BMC Plant Biol.* 2024. V. 24. № 1. P. 848. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05517-3>.

72. Brosse N., Dufour A., Meng X., Sun Q., Ragauskas A. Miscanthus: a fast-growing crop for biofuels and chemicals production // *Biofpr.* 2012. V. 6. № 5. P. 580–598. <https://doi.org/10.1002/bbb.1353>.

73. Burges A., Alkorta I., Epelde L., Garbisu C. From phytoremediation of soil contaminants to phytomanagement of ecosystem services in metal contaminated sites // *International Journal of Phytoremediation.* 2018. V. 20. № 4. P. 384–397. <https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1365340>.

74. Capstaff N. M., Miller A. J. Improving the Yield and Nutritional Quality of Forage Crops // *Front. Plant Sci.* 2018. V. 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00535>.

75. Carrasco L., Azcón R., Kohler J., Roldán A., Caravaca F. Comparative effects of native filamentous and arbuscular mycorrhizal fungi in the establishment of an autochthonous, leguminous shrub growing in a metal-contaminated soil // *Science of The Total Environment.* 2011. V. 409. № 6. P. 1205–1209. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.12.019>.

76. Ćendić M., Deeth R. J., Meetsma A., Garribba E., Sanna D., Matović Z. D. Chelating properties of EDTA-type ligands containing six-membered backbone ring toward copper ion: Structure, EPR and TD-DFT evaluation // *Polyhedron.* 2017. V. 124. P. 215–228. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2016.12.025>.

77. Chandwani S., Amaresan N. Siderophore-producing bacteria mitigate cobalt stress in black gram (*Vigna mungo* L.), and the mitigation strategies are associated with iron concentration // *Environ Sci Pollut Res.* 2023. V. 30. № 59. P. 123556–123569. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-31106-2>.

78. Chaplygin V. A., Bauer T. V., Barakhov A. V., Chernikova N. P., Mandzhieva S. S., Minkina T. M. Zn and Cd input from soil into herbaceous plants of the Asteraceae and Poaceae families // *Live and bio-abiotic systems.* 2019. № 29. P. 18. <https://doi.org/10.18522/2308-9709-2019-29-4>.

79. Chaplygin V., Mandzhieva S., Minkina T., Barahov A., Nevidomskaya D., Kızılkaya R., Gülser C., Chernikova N., Mazarji M., Iljina L., Rajput V. Accumulating capacity of herbaceous plants of the Asteraceae and Poaceae families under technogenic soil pollution with zinc and cadmium // *EJSS*. 2020. V. 9. № 2. P. 165–172. <https://doi.org/10.18393/ejss.707659>.

80. Chaturvedi R., Favas P. J. C., Pratas J., Varun M., Paul M. S. Effect of *Glomus mosseae* on accumulation efficiency, hazard index and antioxidant defense mechanisms in tomato under metal(loid) Stress // *International Journal of Phytoremediation*. 2018. V. 20. № 9. P. 885–894. <https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1438360>.

81. Chauhan R., Rajput V. D., Minkina T., Prasad R., Zhu Y., Varma A., Goel A. Deciphering the Role of Nanoparticles Induced Microbial Exopolysaccharides in Soil Amelioration and Plant Health // *Clean Techn Environ Policy*. 2024. <https://doi.org/10.1007/s10098-024-02858-3>.

82. Chen D., Liu Q., Zhang G., Zang L. Enhancement of Soil Available Nutrients and Crop Growth in Sustainable Agriculture by a Biocontrol Bacterium *Lysobacter enzymogenes* LE16: Preliminary Results in Controlled Conditions // *Agronomy*. 2023. V. 13. № 6. P. 1453. <https://doi.org/10.3390/agronomy13061453>.

83. Chen H., Xiong J., Fang L., Han F., Zhao X., Fan Q., Tan W. Sequestration of heavy metals in soil aggregates induced by glomalin-related soil protein: A five-year phytoremediation field study // *Journal of Hazardous Materials*. 2022. V. 437. P. 129445. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129445>.

84. Chen L., Yang J., Wang D. Phytoremediation of uranium and cadmium contaminated soils by sunflower (*Helianthus annuus* L.) enhanced with biodegradable chelating agents // *Journal of Cleaner Production*. 2020. V. 263. P. 121491. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121491>.

85. Chen Y. P., Rekha P. D., Arun A. B., Shen F. T., Lai W.-A., Young C. C. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities // *Applied Soil Ecology*. 2006. V. 34. № 1. P. 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2005.12.002>.

86. *Chigbo C., Batty L.* Effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cr- B[a]P-co-contaminated soil // *Environ Sci Pollut Res.* 2013. V. 20. № 12. P. 8955–8963. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1883-7>.

87. *Chin A., Bloemberg G., Mulders I., Dekkers L., Lugtenberg B.* Root colonization by phenazine-1-carboxamide-producing bacterium *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 is essential for biocontrol of tomato foot and root rot // *Mol Plant Microbe Interact.* 2000. V. 13. № 12. P. 1340–1345. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2000.13.12.1340>.

88. *Clarholm M., Skjellberg U., Rosling A.* Organic acid induced release of nutrients from metal-stabilized soil organic matter – The unbutton model // *Soil Biology and Biochemistry.* 2015. V. 84. P. 168–176. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.02.019>.

89. *Dalvi A. A., Bhalerao S. A.* Response of Plants towards Heavy Metal Toxicity: An overview of Avoidance, Tolerance and Uptake Mechanism // *Annals of Plant Sciences.* 2013. V. 2. № 9. P. 362–368.

90. *Deng T.-H.-B., Ent A. van der, Tang Y.-T., Sterckeman T., Echevarria G., Morel J.-L., Qiu R.-L.* Nickel hyperaccumulation mechanisms: a review on the current state of knowledge // *Plant Soil.* 2018. V. 423. № 1. P. 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3539-8>.

91. *Devi R., Behera B., Raza M. B., Mangal V., Altaf M. A., Kumar R., Kumar A., Tiwari R. K., Lal M. K., Singh B.* An Insight into Microbes Mediated Heavy Metal Detoxification in Plants: a Review // *J Soil Sci Plant Nutr.* 2022. V. 22. № 1. P. 914–936. <https://doi.org/10.1007/s42729-021-00702-x>.

92. *Dhalaria R., Kumar D., Kumar H., Nepovimova E., Kuča K., Toregul Islam M., Verma R.* Arbuscular Mycorrhizal Fungi as Potential Agents in Ameliorating Heavy Metal Stress in Plants // *Agronomy.* 2020. V. 10. № 6. P. 815. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060815>.

93. *Diarra I., Kotra K. K., Prasad S.* Assessment of biodegradable chelating agents in the phytoextraction of heavy metals from multi-metal

contaminated soil // *Chemosphere*. 2021. V. 273. P. 128483.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128483>.

94. Du S., Lu Q., Liu L., Wang Y., Li J. *Rhodococcus qingshengii* facilitates the phytoextraction of Zn, Cd, Ni, and Pb from soils by *Sedum alfredii* Hance // *Journal of Hazardous Materials*. 2022. V. 424. P. 127638.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127638>.

95. Duan Y., Zhang Y., Zhao B. Lead, zinc tolerance mechanism and phytoremediation potential of *Alcea rosea* (Linn.) Cavan. and *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. and ethylenediaminetetraacetic acid effect // *Environ Sci Pollut Res*. 2022. V. 29. № 27. P. 41329–41343. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-18243-2>.

96. Duarte A. L., DaBoit K., Oliveira M. L. S., Teixeira E. C., Schneider I. L., Silva L. F. O. Hazardous elements and amorphous nanoparticles in historical estuary coal mining area // *Geoscience Frontiers*. 2019. V. 10. № 3. P. 927–939.
<https://doi.org/10.1016/j.gsf.2018.05.005>.

97. Duffy B. K., Défago G. Environmental Factors Modulating Antibiotic and Siderophore Biosynthesis by *Pseudomonas fluorescens* Biocontrol Strains // *Applied and Environmental Microbiology*. 1999. V. 65. № 6. P. 2429–2438.
<https://doi.org/10.1128/AEM.65.6.2429-2438.1999>.

98. Eilers K. G., Lauber C. L., Knight R., Fierer N. Shifts in bacterial community structure associated with inputs of low molecular weight carbon compounds to soil // *Soil Biol. Biochem*. 2010. V. 42. № 6. P. 896–903.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.02.003>.

99. Elhamouly N. A., Hewedy O. A., Zaitoon A., Miraples A., Elshorbagy O. T., Hussien S., El-Tahan A., Peng D. The hidden power of secondary metabolites in plant-fungi interactions and sustainable phytoremediation // *Front. Plant Sci*. 2022. V. 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1044896>.

100. Ene A., Moraru S. S., Moraru D. I., Pantelica A., Gosav S., Ceoromila A. M. Major and Trace Element Accumulation in Soils and Crops (Wheat, Corn, Sunflower) around Steel Industry in the Lower Danube Basin and Associated

Ecological and Health Risks // Applied Sciences. 2024. V. 14. № 13. P. 5616.
<https://doi.org/10.3390/app14135616>.

101. *Faizan M., Rajput V. D., Al-Khuraif A. A., Arshad M., Minkina T., Sushkova S., Yu F.* Effect of Foliar Fertigation of Chitosan Nanoparticles on Cadmium Accumulation and Toxicity in *Solanum lycopersicum* // *Biology*. 2021. V. 10. № 7. P. 666. <https://doi.org/10.3390/biology10070666>.

102. *Fatima A., Farid M., Farid S., Ishaq H. K., Iftikhar U., Rizwan M., Zubair M., Ali S.* Heavy Metals Induced Physiological and Biochemical Changes in Fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.) // *Approaches to the Remediation of Inorganic Pollutants* / под ред. М. Hasanuzzaman. Singapore: Springer, 2021. С. 239–258 https://doi.org/10.1007/978-981-15-6221-1_12.

103. *Franco-Franklin V., Moreno-Riascos S., Ghneim-Herrera T.* Are Endophytic Bacteria an Option for Increasing Heavy Metal Tolerance of Plants? A Meta-Analysis of the Effect Size // *Front. Environ. Sci.* 2021. V. 8. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.603668>.

104. *Friesen M. L., Porter S. S., Stark S. C., Wettberg E. J. von, Sachs J. L., Martinez-Romero E.* Microbially Mediated Plant Functional Traits // *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 2011. V. 42. № 1. P. 23–46. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-102710-145039>.

105. *Gadd G. M.* Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation // *Microbiology*. 2010. V. 156. № 3. P. 609–643. <https://doi.org/10.1099/mic.0.037143-0>.

106. *Gavrilescu M.* Enhancing phytoremediation of soils polluted with heavy metals // *Current Opinion in Biotechnology*. 2022. V. 74. P. 21–31. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.10.024>.

107. *Ghazaryan K. A., Movsesyan H. S., Minkina T. M., Sushkova S. N., Rajput V. D.* The identification of phytoextraction potential of *Melilotus officinalis* and *Amaranthus retroflexus* growing on copper- and molybdenum-polluted soils // *Environ Geochem Health*. 2021. V. 43. № 4. P. 1327–1335. <https://doi.org/10.1007/s10653-019-00338-y>.

108. *Glick B. R.* Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications // *Scientifica*. 2012. V. 2012. P. 1–15. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>.

109. *Glick B. R., Cheng Z., Czarny J., Duan J.* Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria // *New Perspectives and Approaches in Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Research / под ред. P. A. H. M. Bakker, J. M. Raaijmakers, G. Bloemberg, M. Höfte, P. Lemanceau, B. M. Cooke*. Dordrecht: Springer Netherlands, 2007. С. 329–339 https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6776-1_8.

110. *Gluhar S., Kaurin A., Lestan D.* Soil washing with biodegradable chelating agents and EDTA: Technological feasibility, remediation efficiency and environmental sustainability // *Chemosphere*. 2020. V. 257. P. 127226. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127226>.

111. *Gramss G., Voigt K.-D., Bublitz F., Bergmann H.* Increased solubility of (heavy) metals in soil during microbial transformations of sucrose and casein amendments // *Journal of Basic Microbiology*. 2003. V. 43. № 6. P. 483–498. <https://doi.org/10.1002/jobm.200310251>.

112. *Gray J. E., Theodorakos P. M., Bailey E. A., Turner R. R.* Distribution, speciation, and transport of mercury in stream-sediment, stream-water, and fish collected near abandoned mercury mines in southwestern Alaska, USA // *Science of The Total Environment*. 2000. V. 260. № 1. P. 21–33. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(00\)00539-8](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(00)00539-8).

113. *Gulzar A. B. M., Mazumder P. B.* Helping plants to deal with heavy metal stress: the role of nanotechnology and plant growth promoting rhizobacteria in the process of phytoremediation // *Environ Sci Pollut Res*. 2022. V. 29. № 27. P. 40319–40341. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19756-0>.

114. *Guo S., Xiao C., Zhou N., Chi R.* Speciation, toxicity, microbial remediation and phytoremediation of soil chromium contamination // *Environ Chem Lett*. 2021. V. 19. № 2. P. 1413–1431. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01114-6>.

115. *Haider F. U., Liqun C., Coulter J. A., Cheema S. A., Wu J., Zhang R., Wenjun M., Farooq M.* Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2021. V. 211. P. 111887. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111887>.

116. *Harmon S. M.* Biodegradable chelate-assisted phytoextraction of metals from soils and sediments // *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*. 2022. V. 37. P. 100677. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2022.100677>.

117. *Harris A. T., Naidoo K., Nokes J., Walker T., Orton F.* Indicative assessment of the feasibility of Ni and Au phytomining in Australia // *Journal of Cleaner Production*. 2009. V. 17. № 2. P. 194–200. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2008.04.011>.

118. *Hassan T. U., Bano A., Naz I.* Alleviation of heavy metals toxicity by the application of plant growth promoting rhizobacteria and effects on wheat grown in saline sodic field // *International Journal of Phytoremediation*. 2017. V. 19. № 6. P. 522–529. <https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1267696>.

119. *Heckenroth A., Prudent P., Folzer H., Rabier J., Criquet S., Saatkamp A., Salducci M.-D., Vassalo L., Laffont-Schwob I.* *Coronilla juncea*, a native candidate for phytostabilization of potentially toxic elements and restoration of Mediterranean soils // *Sci Rep*. 2022. V. 12. № 1. P. 10033. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14139-4>.

120. *Hemkemeyer M., Schwalb S. A., Heinze S., Joergensen R. G., Wichern F.* Functions of elements in soil microorganisms // *Microbiol. Res*. 2021. V. 252. P. 126832. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126832>.

121. *Hu W., Niu Y., Zhu H., Dong K., Wang D., Liu F.* Remediation of zinc-contaminated soils by using the two-step washing with citric acid and water-soluble chitosan // *Chemosphere*. 2021. V. 282. P. 131092. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131092>.

122. *Huang Y., Wang L., Wang W., Li T., He Z., Yang X.* Current status of agricultural soil pollution by heavy metals in China: A meta-analysis // *Science of*

The Total Environment. 2019. V. 651. P. 3034–3042.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.185>.

123. Hussain A., Amna, Kamran M. A., Javed M. T., Hayat K., Farooq M. A., Ali N., Ali M., Manghwar H., Jan F., Chaudhary H. J. Individual and combinatorial application of *Kocuria rhizophila* and citric acid on phytoextraction of multi-metal contaminated soils by *Glycine max* L // Environmental and Experimental Botany. 2019. V. 159. P. 23–33.
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.12.006>.

124. Hussain U., Afza R., Gul I., Sajad M. A., Shah G. M., Muhammad Z., Khan S. M. Phytoremediation of heavy metals spiked soil by *Celosia argentea* L.: effect on plant growth and metal stabilization // Environ Sci Pollut Res. 2024. V. 31. № 10. P. 15339–15347. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-32176-6>.

125. ISO 14235. Soil quality. Determination of organic carbon by sulfochromic oxidation. Качество почвы. Определение содержания органического углерода методом окисления в смеси дихромата калия и серной кислоты.

126. ISO 23470-2018 Soil quality - Determination of effective cation exchange capacity (CEC) and exchangeable cations using a hexammincobalt(III)chloride solution.

127. Ivanov F. D., Pulikova E. P., Gorovtsov A. V., Chernikova N. P., Barahov A. B., Lacynnik E. S., Mandzhieva S. S., Minkina T. M., Rajput V. D. The effect of chelators on the microbiota and phytoremediation of coal dump soils // Int. J. Environ. Sci. Technol. 2025. <https://doi.org/10.1007/s13762-025-06675-z>.

128. Jabeen N., Abbas Z., Iqbal M., Rizwan M., Jabbar A., Farid M., Ali S., Ibrahim M., Abbas F. Glycinebetaine mediates chromium tolerance in mung bean through lowering of Cr uptake and improved antioxidant system // Archives of Agronomy and Soil Science. 2016. V. 62. № 5. P. 648–662.
<https://doi.org/10.1080/03650340.2015.1082032>.

129. Jampasri K., Pokethitiyook P., Poolpak T., Kruatrachue M., Ounjai P., Kumsopa A. Bacteria-assisted phytoremediation of fuel oil and lead co-contaminated

soil in the salt-stressed condition by *chromolaena odorata* and *Micrococcus luteus* // International Journal of Phytoremediation. 2020. V. 22. № 3. P. 322–333. <https://doi.org/10.1080/15226514.2019.1663482>.

130. *Jean-Soro L., Bordas F., Bollinger J.-C.* Column leaching of chromium and nickel from a contaminated soil using EDTA and citric acid // Environmental Pollution. 2012. V. 164. P. 175–181. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.01.022>.

131. *Jing Y., He Z., Yang X.* Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils // J. Zhejiang Univ. - Sci. B. 2007. V. 8. № 3. P. 192–207. <https://doi.org/10.1631/jzus.2007.B0192>.

132. *Junpradit C., Thooppeng P., Duangmal K., Prapagdee B.* Influence of cadmium-resistant Streptomycetes on plant growth and cadmium uptake by *Chlorophytum comosum* (Thunb.) Jacques // Environ Sci Pollut Res. 2021. V. 28. № 29. P. 39398–39408. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13527-z>.

133. *Kabata-Pendias A.* Trace Elements in Soils and Plants. Boca Raton: CRC Press, 2000. Вып. 3. 432 с. <https://doi.org/10.1201/9781420039900>.

134. *Kafle A., Timilsina A., Gautam A., Adhikari K., Bhattarai A., Aryal N.* Phytoremediation: Mechanisms, plant selection and enhancement by natural and synthetic agents // Environmental Advances. 2022. V. 8. P. 100203. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2022.100203>.

135. *Kaurin A., Cernilogar Z., Lestan D.* Revitalisation of metal-contaminated, EDTA-washed soil by addition of unpolluted soil, compost and biochar: Effects on soil enzyme activity, microbial community composition and abundance // Chemosphere. 2018. V. 193. P. 726–736. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.082>.

136. *Keren R.* Specific effect of magnesium on soil erosion and water infiltration // Soil Science Society of America Journal. 1991. V. 55. № 3. P. 783–787. <https://doi.org/10.2136/sssaj1991.03615995005500030025x>.

137. *Kidd D., Field D., McBratney A., Webb M.* A preliminary spatial quantification of the soil security dimensions for Tasmania // Geoderma. 2018. V. 322. P. 184–200. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.02.018>.

138. *Kiran, Bharti R., Sharma R.* Effect of heavy metals: An overview // *Materials Today: Proceedings.* 2022. V. 51. P. 880–885. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.06.278>.

139. *Kocaman A.* Combined interactions of amino acids and organic acids in heavy metal binding in plants // *Plant Signaling & Behavior.* 2023. V. 18. № 1. P. 2064072. <https://doi.org/10.1080/15592324.2022.2064072>.

140. *Kohler J., Caravaca F., Azcón R., Díaz G., Roldán A.* Suitability of the microbial community composition and function in a semiarid mine soil for assessing phytomanagement practices based on mycorrhizal inoculation and amendment addition // *Journal of Environmental Management.* 2016. V. 169. P. 236–246. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.12.037>.

141. *Kumari S., Maiti S. K.* Nitrogen recovery in reclaimed mine soil under different amendment practices in tandem with legume and non-legume revegetation: A review // *Soil Use and Management.* 2022. V. 38. № 2. P. 1113–1145. <https://doi.org/10.1111/sum.12787>.

142. *Lasat M.* Phytoextraction of Metals from Contaminated Soil: A Review of Plant/Soil/Metal Interaction and Assessment of Pertinent Agronomic Issues // *Journal of Hazardous Substance Research.* 1999. V. 2. № 1. <https://doi.org/10.4148/1090-7025.1015>.

143. *Li Q., Xing Y., Fu X., Ji L., Li T., Wang J., Chen G., Qi Z., Zhang Q.* Biochemical mechanisms of rhizospheric *Bacillus subtilis*-facilitated phytoextraction by alfalfa under cadmium stress – Microbial diversity and metabolomics analyses // *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 2021. V. 212. P. 112016. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112016>.

144. *Lian M., Wang J., Ma Y., Li J., Zeng X.* Influence of DOM and its subfractions on the mobilization of heavy metals in rhizosphere soil solution // *Sci Rep.* 2022. V. 12. № 1. P. 14082. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18419-x>.

145. *Liberati A., Altman D. G., Tetzlaff J., Mulrow C., Gøtzsche P. C., Ioannidis J. P. A., Clarke M., Devereaux P. J., Kleijnen J., Moher D.* The PRISMA Statement for Reporting Systematic Reviews and Meta-Analyses of Studies That

Evaluate Health Care Interventions: Explanation and Elaboration // *Ann Intern Med.* 2009. V. 151. № 4. P. W-65. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-151-4-200908180-00136>.

146. *Liu S., Li J., Lai W., Fan Y.* Appraising the effects of various chelants on alleviating cadmium by *Boehmeria nivea* (L.) Gaud from cadmium-contaminated soils // *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 2022. V. 19. № 10. P. 9457–9466. <https://doi.org/10.1007/s13762-021-03775-4>.

147. *Liu Z., Chen W., He X.* Evaluation of hyperaccumulation potentials to cadmium (Cd) in six ornamental species (compositae) // *International Journal of Phytoremediation.* 2018. V. 20. № 14. P. 1464–1469. <https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1501343>.

148. *Llamas A., Sanz A.* Organ-distinctive changes in respiration rates of rice plants under nickel stress // *Plant Growth Regul.* 2008. V. 54. № 1. P. 63–69. <https://doi.org/10.1007/s10725-007-9229-4>.

149. *Lodewyckx C., Taghavi S., Mergeay M., Vangronsveld J., Clijsters H., Lelie D. van der.* The Effect of recombinant heavy metal-resistant endophytic bacteria on heavy metal uptake by their host plant // *International Journal of Phytoremediation.* 2001. V. 3. № 2. P. 173–187. <https://doi.org/10.1080/15226510108500055>.

150. *Luo S., Xu T., Chen L., Chen J., Rao C., Xiao X., Wan Y., Zeng G., Long F., Liu C., Liu Y.* Endophyte-assisted promotion of biomass production and metal-uptake of energy crop sweet sorghum by plant-growth-promoting endophyte *Bacillus* sp. SLS18 // *Appl Microbiol Biotechnol.* 2012. V. 93. № 4. P. 1745–1753. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3483-0>.

151. *Ma H., Li X., Wei M., Zeng G., Hou S., Li D., Xu H.* Elucidation of the mechanisms into effects of organic acids on soil fertility, cadmium speciation and ecotoxicity in contaminated soil // *Chemosphere.* 2020. V. 239. P. 124706. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124706>.

152. *Ma Y., Rajkumar M., Freitas H.* Improvement of plant growth and nickel uptake by nickel resistant-plant-growth promoting bacteria // *Journal of*

Hazardous Materials. 2009. V. 166. № 2–3. P. 1154–1161.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.12.018>.

153. *Ma Y., Rajkumar M., Luo Y., Freitas H.* Inoculation of endophytic bacteria on host and non-host plants—Effects on plant growth and Ni uptake // Journal of Hazardous Materials. 2011. V. 195. P. 230–237.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.08.034>.

154. *Macedo F. G., Santos E. F., Lavres J.* Agricultural crop influences availability of nickel in the rhizosphere; a study on base cation saturations, Ni dosages and crop succession // Rhizosphere. 2020. V. 13. P. 100182.
<https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2019.100182>.

155. *Mahawar L., Poppek R., Shekhawat G. S., Alyemeni M. N., Ahmad P.* Exogenous hemin improves Cd²⁺ tolerance and remediation potential in *Vigna radiata* by intensifying the HO-1 mediated antioxidant defence system // Sci Rep. 2021. № 11. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82391-1>.

156. *Mahmud A. A., Upadhyay S. K., Srivastava A. K., Bhojiya A. A.* Biofertilizers: A Nexus between soil fertility and crop productivity under abiotic stress // Current Research in Environmental Sustainability. 2021. V. 3. P. 100063.
<https://doi.org/10.1016/j.crsust.2021.100063>.

157. *Mandal D., Basu A.* Role of Heavy-Metal Resistant Bacteria Isolated from Rhizosphere in Bioremediation and Plant Development // Rhizobiology: Molecular Physiology of Plant Roots / под ред. S. Mukherjee, F. Baluška. Cham: Springer International Publishing, 2021. С. 411–435 https://doi.org/10.1007/978-3-030-84985-6_22.

158. *Manoj S. R., Karthik C., Kadirvelu K., Arulselvi P. I., Shanmugasundaram T., Bruno B., Rajkumar M.* Understanding the molecular mechanisms for the enhanced phytoremediation of heavy metals through plant growth promoting rhizobacteria: A review // Journal of Environmental Management. 2020. V. 254. P. 109779. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109779>.

159. *McGrath S. P., Zhao F. J., Lombi E.* Plant and rhizosphere processes involved in phytoremediation of metal-contaminated soils // *Plant and Soil*. 2001. V. 232. № 1. P. 207–214. <https://doi.org/10.1023/A:1010358708525>.

160. *Minkina T., Fedorenko G., Nevidomskaya D., Fedorenko A., Sushkova S., Mandzhieva S., Chaplygin V., Litvinov Y., Ghazaryan K., Movsesyan H., Popov Y., Rensing C., Rajput V. D., Wong M. H.* Biogeochemical and microscopic studies of soil and *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. plants affected by coal mine dumps // *Environ Sci Pollut Res*. 2024. V. 31. № 1. P. 406–421. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-31064-9>.

161. *Minkina T. M., Motuzova G. V., Nazarenko O. G., Kryshchenko V. S., Mandzhieva S. S.* Combined approach for fractioning metal compounds in soils // *Eurasian Soil Sc*. 2008. V. 41. № 11. P. 1171–1179. <https://doi.org/10.1134/S1064229308110057>.

162. *Minkina T. M., Pinskii D. L., Zamulina I. V., Nevidomskaya D. G., Gülser C., Mandzhieva S. S., Bauer T. V., Morozov I. V., Sushkova S. N., Kizilkaya R.* Chemical contamination in upper horizon of Haplic Chernozem as a transformation factor of its physicochemical properties // *J Soils Sediments*. 2018. V. 18. № 6. P. 2418–2430. <https://doi.org/10.1007/s11368-017-1713-5>.

163. *Modgil R., Tanwar B., Goyal A., Kumar V.* Soybean (*Glycine max*) // *Oilseeds: Health Attributes and Food Applications*. : Springer Singapore, 2020. Вып. 1. С. 1–46.

164. *Monokrousos N., Papatheodorou E. M., Orfanoudakis M., Jones D.-G., Scullion J., Stamou G. P.* The effects of plant type, AMF inoculation and water regime on rhizosphere microbial communities // *European Journal of Soil Science*. 2019. V. 71. № 2. P. 265–278. <https://doi.org/10.1111/ejss.12882>.

165. *Montreemuk J., Stewart T. N., Prapagdee B.* Bacterial-assisted phytoremediation of heavy metals: Concepts, current knowledge, and future directions // *Environmental Technology & Innovation*. 2024. V. 33. P. 103488. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2023.103488>.

166. *Morais Cardoso L. de, Pinheiro S. S., Martino H. S. D., Pinheiro-Sant'Ana H. M.* Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Nutrients, bioactive compounds, and potential impact on human health // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2017. V. 57. № 2. P. 372–390. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.887057>.

167. *Nandy S., Das T., Tudu C. K., Pandey D. K., Dey A., Ray P.* Fungal endophytes: Futuristic tool in recent research area of phytoremediation // *South African Journal of Botany*. 2020. V. 134. P. 285–295. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.02.015>.

168. *Nikitin D. A., Semenov M. V., Chernov T. I., Ksenofontova N. A., Zhelezova A. D., Ivanova E. A., Khitrov N. B., Stepanov A. L.* Microbiological Indicators of Soil Ecological Functions: A Review // *Eurasian Soil Sc.* 2022. V. 55. № 2. P. 221–234. <https://doi.org/10.1134/S1064229322020090>.

169. *Nonnoi F., Chinnaswamy A., García de la Torre V. S., Coba de la Peña T., Lucas M. M., Pueyo J. J.* Metal tolerance of rhizobial strains isolated from nodules of herbaceous legumes (*Medicago* spp. and *Trifolium* spp.) growing in mercury-contaminated soils // *Applied Soil Ecology*. 2012. V. 61. P. 49–59. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.06.004>.

170. *Norton D., Dontsova K.* Use of soil amendments to prevent soil surface sealing and control erosion // *Advances in GeoEcology*. 1998. № 31. P. 581–587.

171. *Ouzounidou G., Moustakas M., Symeonidis L., Karataglis S.* Response of Wheat Seedlings to Ni Stress: Effects of Supplemental Calcium // *Arch Environ Contam Toxicol*. 2006. V. 50. № 3. P. 346–352. <https://doi.org/10.1007/s00244-005-5076-3>.

172. *Parida B. K., Chhibba I. M., Nayyar V. K.* Influence of nickel-contaminated soils on fenugreek (*Trigonella corniculata* L.) growth and mineral composition // *Scientia Horticulturae*. 2003. V. 98. № 2. P. 113–119. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(02\)00208-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(02)00208-X).

173. *Pasricha S., Mathur V., Garg A., Lenka S., Verma K., Agarwal S.* Molecular mechanisms underlying heavy metal uptake, translocation and tolerance

in hyperaccumulators-an analysis: Heavy metal tolerance in hyperaccumulators // *Environmental Challenges*. 2021. V. 4. P. 100197. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100197>.

174. *Peralta-Videa J. R., Lopez M. L., Narayan M., Saupe G., Gardea-Torresdey J.* The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: Implications for the food chain // *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2009. V. 41. № 8. P. 1665–1677. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2009.03.005>.

175. *Philippot L., Raaijmakers J. M., Lemanceau P., Putten W. H. van der.* Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere // *Nat Rev Microbiol*. 2013. V. 11. № 11. P. 789–799. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3109>.

176. *Placek A., Grobelak A., Kacprzak M.* Improving the phytoremediation of heavy metals contaminated soil by use of sewage sludge // *International Journal of Phytoremediation*. 2016. V. 18. № 6. P. 605–618. <https://doi.org/10.1080/15226514.2015.1086308>.

177. *Postigo C., Martinez D. E., Grondona S., Miglioranza K. S. B.* Groundwater Pollution: Sources, Mechanisms, and Prevention // *Encyclopedia of the Anthropocene* / под ред. D. A. Dellasala, M. I. Goldstein. Oxford: Elsevier, 2018. C. 87–96 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809665-9.09880-3>.

178. *Prasad M. N. V.* Nickelophilous plants and their significance in phytotechnologies // *Braz. J. Plant Physiol.* 2005. V. 17. P. 113–128. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000100010>.

179. *Pulikova E., Ivanov F., Gorovtsov A., Dudnikova T., Zinchenko V., Minkina T., Mandzhieva S., Barahov A., Sherbakov A., Sushkova S.* Microbiological status of natural and anthropogenic soils of the Taganrog Bay coast at different levels of combined pollution with heavy metals and PAHs // *Environ Geochem Health*. 2023. V. 45. № 12. P. 9373–9390. <https://doi.org/10.1007/s10653-022-01405-7>.

180. *Pulikova E. P., Demin K. A., Ivanov F. D., Gorovtsov A. V., Rajput V. D., Tarigholizadeh S., Barakhov A. V., Zamulina I. V., Gao Y., Nevidomskaya D. G., Minkina T. M., Wong M. H.* Soil physicochemical and microbial properties affect

nitrogen cycling in technogenically transformed coal dump soils // *Applied Soil Ecology*. 2024. V. 202. P. 105562. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2024.105562>.

181. *Rahmonov O., Czajka A., Nádudvari Á., Fajer M., Spórna T., Szypuła B.* Soil and vegetation development on coal-waste dump in Southern Poland // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022. V. 19. № 15. P. 9167. <https://doi.org/10.3390/ijerph19159167>.

182. *Ranum P., Peña-Rosas J. P., Garcia-Casal M. N.* Global maize production, utilization, and consumption // *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2014. V. 1312. № 1. P. 105–112. <https://doi.org/10.1111/nyas.12396>.

183. *Rho H., Hsieh M., Kandel S. L., Cantillo J., Doty S. L., Kim S.-H.* Do Endophytes Promote Growth of Host Plants Under Stress? A Meta-Analysis on Plant Stress Mitigation by Endophytes // *Microb Ecol*. 2018. V. 75. № 2. P. 407–418. <https://doi.org/10.1007/s00248-017-1054-3>.

184. *Rizwan M., Ali S., Ali B., Adrees M., Arshad M., Hussain A., Zia ur Rehman M., Waris A. A.* Zinc and iron oxide nanoparticles improved the plant growth and reduced the oxidative stress and cadmium concentration in wheat // *Chemosphere*. 2019. V. 214. P. 269–277. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.120>.

185. *Rizwan M., Ali S., Zia ur Rehman M., Rinklebe J., Tsang D. C. W., Bashir A., Maqbool A., Tack F. M. G., Ok Y. S.* Cadmium phytoremediation potential of *Brassica* crop species: A review // *Science of The Total Environment*. 2018. V. 631–632. P. 1175–1191. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.104>.

186. *Rodríguez H., Fraga R., Gonzalez T., Bashan Y.* Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria // *Plant Soil*. 2006. V. 287. № 1. P. 15–21. <https://doi.org/10.1007/s11104-006-9056-9>.

187. *Rouhani A., Gusiatin M. Z., Hejzman M.* An overview of the impacts of coal mining and processing on soil: assessment, monitoring, and challenges in the Czech Republic // *Environ Geochem Health*. 2023. V. 45. № 11. P. 7459–7490. <https://doi.org/10.1007/s10653-023-01700-x>.

188. Roy T., Bandopadhyay A., Paul C., Majumdar S., Das N. Role of Plasmid in Pesticide Degradation and Metal Tolerance in Two Plant Growth-Promoting Rhizobacteria *Bacillus cereus* (NCIM 5557) and *Bacillus safensis* (NCIM 5558) // *Curr Microbiol.* 2022. V. 79. № 4. P. 106. <https://doi.org/10.1007/s00284-022-02793-w>.
189. Sabir M., Hanafi M. M., Zia-Ur-Rehman M., Saifullah, Ahmad H. R., Hakeem K. R., Aziz T. Comparison of Low-Molecular-Weight Organic Acids and Ethylenediaminetetraacetic Acid to Enhance Phytoextraction of Heavy Metals by Maize // *Communications in Soil Science and Plant Analysis.* 2014. V. 45. № 1. P. 42–52. <https://doi.org/10.1080/00103624.2013.848879>.
190. Sachan P., Lal N. An Overview of Nickel (Ni²⁺) Essentiality, Toxicity and Tolerance Strategies in Plants // *Asian Journal of Biology.* 2017. V. 2. № 4. P. 1–15.
191. Safronova V. I., Stepanok V. V., Engqvist G. L., Alekseyev Y. V., Belimov A. A. Root-associated bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase improve growth and nutrient uptake by pea genotypes cultivated in cadmium supplemented soil // *Biol Fertil Soils.* 2006. V. 42. № 3. P. 267–272. <https://doi.org/10.1007/s00374-005-0024-y>.
192. Sahu C., Basti S. Trace metal pollution in the environment: a review // *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 2021. V. 18. № 1. P. 211–224. <https://doi.org/10.1007/s13762-020-02779-w>.
193. Santamarina J. C., Klein K. A., Fam M. *Soils and Waves: Particulate Materials Behavior, Characterization and Process Monitoring.* New York: John Wiley & Sons, 2001. 488 c.
194. Sarwar N., Imran M., Shaheen M. R., Ishaque W., Kamran M. A., Matloob A., Rehim A., Hussain S. Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: Modifications and future perspectives // *Chemosphere.* 2017. V. 171. P. 710–721. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.116>.
195. Selim S., Akhtar N., Hagagy N., Alanazi A., Warrad M., El Azab E., Elamir M. Y. M., Al-Sanea M. M., Jaouni S. K. A., Abdel-Mawgoud M., Shah A. A.,

Abdelgawad H. Selection of Newly Identified Growth-Promoting Archaea Haloferax Species With a Potential Action on Cobalt Resistance in Maize Plants // *Front. Plant Sci.* 2022. V. 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.872654>.

196. *Semenkov I., Sharapova A., Lednev S., Yudina N., Karpachevskiy A., Klink G., Koroleva T.* Geochemical Partitioning of Heavy Metals and Metalloids in the Ecosystems of Abandoned Mine Sites: A Case Study within the Moscow Brown Coal Basin // *Water.* 2022. V. 14. № 1. P. 113. <https://doi.org/10.3390/w14010113>.

197. *Seregin I. V., Kozhevnikova A. D.* Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants // *Russ J Plant Physiol.* 2006. V. 53. № 2. P. 257–277. <https://doi.org/10.1134/S1021443706020178>.

198. *Shabani L., Sabzalian M. R., Mostafavi S.* Arbuscular mycorrhiza affects nickel translocation and expression of ABC transporter and metallothionein genes in *Festuca arundinacea* // *Mycorrhiza.* 2016. V. 26. № 1. P. 67–76. <https://doi.org/10.1007/s00572-015-0647-2>.

199. *Shabani N., Sayadi M. H.* Evaluation of heavy metals accumulation by two emergent macrophytes from the polluted soil: an experimental study // *Environmentalist.* 2012. V. 32. № 1. P. 91–98. <https://doi.org/10.1007/s10669-011-9376-z>.

200. *Shaheen S. M., Antoniadis V., Kwon E., Song H., Wang S.-L., Hseu Z.-Y., Rinklebe J.* Soil contamination by potentially toxic elements and the associated human health risk in geo- and anthropogenic contaminated soils: A case study from the temperate region (Germany) and the arid region (Egypt) // *Environmental Pollution.* 2020. V. 262. P. 114312. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114312>.

201. *Shahid M., Austruy A., Echevarria G., Arshad M., Sanaullah M., Aslam M., Nadeem M., Nasim W., Dumat C.* EDTA-Enhanced Phytoremediation of Heavy Metals: A Review // *Soil and Sediment Contamination: An International Journal.* 2014. V. 23. № 4. P. 389–416. <https://doi.org/10.1080/15320383.2014.831029>.

202. *Sharma J. K., Kumar N., Singh N. P., Santal A. R.* Phytoremediation technologies and their mechanism for removal of heavy metal from contaminated

soil: An approach for a sustainable environment // *Front. Plant Sci.* 2023. V. 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1076876>.

203. *Sharma P.* Efficiency of bacteria and bacterial assisted phytoremediation of heavy metals: An update // *Bioresource Technology.* 2021. V. 328. P. 124835. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124835>.

204. *Sharma S. S., Dietz K.-J.* The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance // *Trends in Plant Science.* 2009. V. 14. № 1. P. 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.007>.

205. *Sharmin S. A., Alam I., Kim K.-H., Kim Y.-G., Kim P. J., Bahk J. D., Lee B.-H.* Chromium-induced physiological and proteomic alterations in roots of *Miscanthus sinensis* // *Plant Science.* 2012. V. 187. P. 113–126. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.02.002>.

206. *Shi X., Zhao Y., Xu M., Ma L., Adams J. M., Shi Y.* Insight into Plant-Microbe Interactions in rhizosphere for Sustainable Agriculture in the New Crops Era // *New Crops.* 2023. <https://doi.org/10.1016/j.ncrops.2023.11.002>.

207. *Shifaw E.* Review of Heavy Metals Pollution in China in Agricultural and Urban Soils // *Journal of Health and Pollution.* 2018. V. 8. № 18. P. 180607. <https://doi.org/10.5696/2156-9614-8.18.180607>.

208. *Shinta Y. C., Zaman B., Sumiyati S.* Citric Acid and EDTA as chelating agents in phytoremediation of heavy metal in polluted soil: a review // *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 2021. V. 896. № 1. P. 012023. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/896/1/012023>.

209. *Shuaib M., Azam N., Bahadur S., Romman M., Yu Q., Xuexiu C.* Variation and succession of microbial communities under the conditions of persistent heavy metal and their survival mechanism // *Microbial Pathogenesis.* 2021. V. 150. P. 104713. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104713>.

210. *Simek J., Kovalikova Z., Dohnal V., Tuma J.* Accumulation of cadmium in potential hyperaccumulators *Chlorophytum comosum* and *Callisia fragrans* and role of organic acids under stress conditions // *Environ Sci Pollut Res.* 2018. V. 25. № 28. P. 28129–28139. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2831-3>.

211. *Siunova T. V., Anokhina T. O., Mashukova A. V., Kochetkov V. V., Boronin A. M.* Rhizosphere strain of *Pseudomonas chlororaphis* capable of degrading naphthalene in the presence of cobalt/nickel // *Microbiology*. 2007. V. 76. № 2. P. 182–188. <https://doi.org/10.1134/S0026261707020099>.

212. *Siunova T. V., Filonov A. E., Gorovtsov A. V., Akhmetov L. I., Ivanov F. D., Rajput V. D., Minkina T. M., Sushkova S. N., Wong M. H., Biswas J. K.* Potential of nickel and cobalt resistant microorganisms for effective phytoremediation of heavy metal contaminated soils // *Discov Environ*. 2025. V. 3. № 1. P. 99. <https://doi.org/10.1007/s44274-025-00301-y>.

213. *Sokolov D. A., Androkhanov V. A., Abakumov E. V.* Soil formation in technogenic landscapes: trends, results, and representation in the current classifications (Review) // *Tomsk State University Journal of Biology*. 2021. № 56. P. 6–32. <https://doi.org/10.17223/19988591/56/1>.

214. *Somenahally A.* Root-Microbe Interactions in Response to Soil Conditions // *Global Soil Security Progress in Soil Science*. / под ред. D. J. Field, C. L. S. Morgan, A. B. McBratney. Cham: Springer International Publishing, 2017. C. 137–144 https://doi.org/10.1007/978-3-319-43394-3_12.

215. *Subbarao G. V., Yoshihashi T., Worthington M., Nakahara K., Ando Y., Sahrawat K. L., Rao I. M., Lata J.-C., Kishii M., Braun H.-J.* Suppression of soil nitrification by plants // *Plant Science*. 2015. V. 233. P. 155–164. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.01.012>.

216. *Subhashini V., Swamy A. V. V. S.* Potential of *Catharanthus roseus* (L.) in Phytoremediation of Heavy Metals // *Catharanthus roseus: Current Research and Future Prospects* / под ред. M. Naeem, T. Aftab, M. M. A. Khan. Cham: Springer International Publishing, 2017. C. 349–364 https://doi.org/10.1007/978-3-319-51620-2_15.

217. *Sun S.-L., Yang W.-L., Fang W.-W., Zhao Y.-X., Guo L., Dai Y.-J.* The Plant Growth-Promoting Rhizobacterium *Variovorax boronicumulans* CGMCC 4969 Regulates the Level of Indole-3-Acetic Acid Synthesized from Indole-3-

Acetonitrile // *Applied and Environmental Microbiology*. 2018. V. 84. № 16. P. e00298-18. <https://doi.org/10.1128/AEM.00298-18>.

218. *Tang Q., Zhou T., Gu F., Wang Y., Chu J.* Removal of Cd(II) and Pb(II) from soil through desorption using citric acid: Kinetic and equilibrium studies // *J. Cent. South Univ.* 2017. V. 24. № 9. P. 1941–1952. <https://doi.org/10.1007/s11771-017-3602-x>.

219. *Timmusk S., Paalme V., Pavlicek T., Bergquist J., Vangala A., Danilas T., Nevo E.* Bacterial Distribution in the Rhizosphere of Wild Barley under Contrasting Microclimates // *PLOS ONE*. 2011. V. 6. № 3. P. e17968. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017968>.

220. *Tipping E.* Cation binding by humic substances. New York: Cambridge University Press, 2002. Вып. 1. 434 с.

221. *Tirry N., Kouchou A., El Omari B., Ferioun M., El Ghachtouli N.* Improved chromium tolerance of *Medicago sativa* by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) // *J Genet Eng Biotechnol*. 2021. V. 19. № 1. P. 149. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00254-8>.

222. *Turan M., Angin I.* Organic chelate assisted phytoextraction of B, Cd, Mo and Pb from contaminated soils using two agricultural crop species // *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*. 2004. V. 54. № 4. P. 221–231. <https://doi.org/10.1080/09064710410035622>.

223. *Türkoğlu T., Türkoğlu S.* Evaluation of heavy metals concentrations of *Verbascum diversifolium* and *Alcea calvertii* plants // *Estuscience - Life*. 2023. V. 12. № 2. P. 64–72. <https://doi.org/10.18036/estubtdc.1172036>.

224. *Uchimiya M., Bannon D., Nakanishi H., McBride M. B., Williams M. A., Yoshihara T.* Chemical Speciation, Plant Uptake, and Toxicity of Heavy Metals in Agricultural Soils // *J. Agric. Food Chem*. 2020. V. 68. № 46. P. 12856–12869. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00183>.

225. *Ugulu I., Khan Z. I., Rehman S., Ahmad K., Munir M., Bashir H., Nawaz K.* Trace Metal Accumulation in *Trigonella foenum-graecum* Irrigated with Wastewater and Human Health Risk of Metal Access Through the Consumption //

Bull Environ Contam Toxicol. 2019. V. 103. № 3. P. 468–475.
<https://doi.org/10.1007/s00128-019-02673-3>.

226. Ullah A., Mushtaq H., Ali H., Munis M. F. H., Javed M. T., Chaudhary H. J. Diazotrophs-assisted phytoremediation of heavy metals: a novel approach // Environ Sci Pollut Res. 2015. V. 22. № 4. P. 2505–2514.
<https://doi.org/10.1007/s11356-014-3699-5>.

227. Ultra V. U., Manyiwa T. Influence of mycorrhiza and fly ash on the survival, growth and heavy metal accumulation in three Acacia species grown in Cu–Ni mine soil // Environ Geochem Health. 2021. V. 43. № 4. P. 1337–1353.
<https://doi.org/10.1007/s10653-020-00627-x>.

228. Vikhman M. I., Ingiri A. A., Kislykh E. E., Liseenko L. A. Agroecological characteristic of urbanozem soils in Murmansk city // Agrochemical herald. 2009. № 5. P. 31–33.

229. Visioli G., Vamerali T., Mattarozzi M., Dramis L., Sanangelantoni A. M. Combined endophytic inoculants enhance nickel phytoextraction from serpentine soil in the hyperaccumulator *Noccaea caerulea* // Front. Plant Sci. 2015. V. 6.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00638>.

230. Voccianta M., Grifoni M., Fusini D., Petruzzelli G., Franchi E. The role of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) in mitigating plant's environmental stresses // Applied Sciences. 2022. V. 12. № 3. P. 1231.
<https://doi.org/10.3390/app12031231>.

231. Wan M., Hu W., Wang H., Tian K., Huang B. Comprehensive assessment of heavy metal risk in soil-crop systems along the Yangtze River in Nanjing, Southeast China // Science of The Total Environment. 2021. V. 780. P. 146567. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146567>.

232. Wan Y., Peng M., Wang Y.-P. Assessment of heavy metal concentrations in roadside soils and plants around the Dexing copper mine: implications for environmental management and remediation // Environ Monit Assess. 2024. V. 196. № 3. P. 251. <https://doi.org/10.1007/s10661-024-12422-7>.

233. Wang Y., Yan A., Dai J., Wang N., Wu D. Accumulation and tolerance characteristics of cadmium in *Chlorophytum comosum*: a popular ornamental plant and potential Cd hyperaccumulator // *Environ Monit Assess.* 2012. V. 184. № 2. P. 929–937. <https://doi.org/10.1007/s10661-011-2010-1>.

234. Wen J., Stacey S. P., McLaughlin M. J., Kirby J. K. Biodegradation of rhamnolipid, EDTA and citric acid in cadmium and zinc contaminated soils // *Soil Biol. Biochem.* 2009. V. 41. № 10. P. 2214–2221. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.08.006>.

235. Wu B., Luo S., Luo H., Huang H., Xu F., Feng S., Xu H. Improved phytoremediation of heavy metal contaminated soils by *Miscanthus floridulus* under a varied rhizosphere ecological characteristic // *Science of The Total Environment.* 2022a. V. 808. P. 151995. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151995>.

236. Wu B., Peng H., Sheng M., Luo H., Wang X., Zhang R., Xu F., Xu H. Evaluation of phytoremediation potential of native dominant plants and spatial distribution of heavy metals in abandoned mining area in Southwest China // *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 2021. V. 220. P. 112368. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112368>.

237. Wu L. H., Luo Y. M., Xing X. R., Christie P. EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leaching risk // *Agriculture, Ecosystems & Environment.* 2004. V. 102. № 3. P. 307–318. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2003.09.002>.

238. Wu S., Zhang X., Sun Y., Wu Z., Li T., Hu Y., Su D., Lv J., Li G., Zhang Z., Zheng L., Zhang J., Chen B. Transformation and Immobilization of Chromium by Arbuscular Mycorrhizal Fungi as Revealed by SEM–EDS, TEM–EDS, and XAFS // *Environ. Sci. Technol.* 2015. V. 49. № 24. P. 14036–14047. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b03659>.

239. Wu Y., Li X., Yu L., Wang T., Wang J., Liu T. Review of soil heavy metal pollution in China: Spatial distribution, primary sources, and remediation alternatives // *Resources, Conservation and Recycling.* 2022b. V. 181. P. 106261. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2022.106261>.

240. Yang Q., Li Z., Lu X., Duan Q., Huang L., Bi J. A review of soil heavy metal pollution from industrial and agricultural regions in China: Pollution and risk assessment // *Science of The Total Environment*. 2018. V. 642. P. 690–700. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.068>.

241. Yanitch A., Kadri H., Frenette-Dussault C., Joly S., Pitre F. E., Labrecque M. A four-year phytoremediation trial to decontaminate soil polluted by wood preservatives: phytoextraction of arsenic, chromium, copper, dioxins and furans // *International Journal of Phytoremediation*. 2020. V. 22. № 14. P. 1505–1514. <https://doi.org/10.1080/15226514.2020.1785387>.

242. Yildirim D., Sasmaz A. Phytoremediation of As, Ag, and Pb in contaminated soils using terrestrial plants grown on Gumuskoy mining area (Kutahya Turkey) // *Journal of Geochemical Exploration*. 2017. V. 182. P. 228–234. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2016.11.005>.

243. Zahoor M., Irshad M., Rahman H., Qasim M., Afridi S. G., Qadir M., Hussain A. Alleviation of heavy metal toxicity and phytostimulation of *Brassica campestris* L. by endophytic *Mucor* sp. MHR-7 // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2017. V. 142. P. 139–149. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.04.005>.

244. Zaidi S., Usmani S., Singh B. R., Musarrat J. Significance of *Bacillus subtilis* strain SJ-101 as a bioinoculant for concurrent plant growth promotion and nickel accumulation in *Brassica juncea* // *Chemosphere*. 2006. V. 64. № 6. P. 991–997. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.12.057>.

245. Zhang M., Cheng L., Yue Z., Peng L., Xiao L. Assessment of heavy metal(oid) pollution and related health risks in agricultural soils surrounding a coal gangue dump from an abandoned coal mine in Chongqing, Southwest China // *Sci Rep*. 2024. V. 14. № 1. P. 18667. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-69072-5>.

246. Zhang X. C., Norton L. D. Effect of exchangeable Mg on saturated hydraulic conductivity, disaggregation and clay dispersion of disturbed soils // *Journal of Hydrology*. 2002. V. 260. № 1. P. 194–205. [https://doi.org/10.1016/S0022-1694\(01\)00612-6](https://doi.org/10.1016/S0022-1694(01)00612-6).

247. *Zhao A., Gao L., Chen B., Feng L.* Phytoremediation potential of *Miscanthus sinensis* for mercury-polluted sites and its impacts on soil microbial community // *Environ Sci Pollut Res.* 2019. V. 26. № 34. P. 34818–34829. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06563-3>.

248. *Zhu Y., Wang Y., He X., Li B., Du S.* Plant growth-promoting rhizobacteria: A good companion for heavy metal phytoremediation // *Chemosphere.* 2023. V. 338. P. 139475. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139475>.

249. *Zinchenko M. K., Zinchenko S. I., Mazirov M. A., Ragimov A. O., Shitikova A. V.* Biological indicators in the environmental monitoring of gray forest soil of agrosystems // *Caspian Journal of Environmental Sciences.* 2021. V. 19. № 5. P. 891–896. <https://doi.org/10.22124/cjes.2021.5252>.

250. *Zuberer D. A.* Recovery and Enumeration of Viable Bacteria // *Methods of Soil Analysis: Part 2 Microbiological and Biochemical Properties SSSA Book Series.* / под ред. R. W. Weaver. Hoboken: Wiley, 1994. С. 119–144.

251. *Zulfiqar U., Yasmin A., Fariq A.* Metabolites produced by inoculated *Vigna radiata* during bacterial assisted phytoremediation of Pb, Ni and Cr polluted soil // *PLOS ONE.* 2022. V. 17. № 11. P. e0277101. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277101>.


252. *Zupanc V., Kastelec D., Lestan D., Grcman H.* Soil physical characteristics after EDTA washing and amendment with inorganic and organic additives // *Environmental Pollution.* 2014. V. 186. P. 56–62. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.11.027>.

253. *Soil Nitrogen Ecology* / под ред. C. Cruz, K. Vishwakarma, D. K. Choudhary, A. Varma. Cham: Springer International Publishing, 2021. 568 с. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-71206-8>.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица 22

Морфологическое описание профиля чернозема обыкновенного карбонатного среднегумусированного среднемогучного тяжелосуглинистого

Фото профиля	Генетические горизонты	Глубина, см	Описание
	Ad	0-6	сухой, темно-серый, тяжелосуглинистый, комковато-порошистый, рыхлый, тонкопористый, тонкотрещиноватый, присутствуют корни, ходы животных, земляные бусы, переход заметный по плотности
	A	6-54	влажноватый, темно-серый с бурым оттенком, тяжелосуглинистый, порошисто-комковатый, уплотненный, присутствуют копролиты, корни, земляные бусы, переход постепенный по окраске
	AB	54-71	влажноватый, темно-бурый с серым оттенком, тяжелосуглинистый, комковатый, плотный, тонкопористый, тонкотрещиноватый, присутствуют копролиты, корни, земляные бусы, переход заметный по окраске
	B	71-85	влажноватый, темно-бурый с серым оттенком, легкоглинистый, комковато-ореховатый, плотный, тонкопористый, тонкотрещиноватый, встречаются единичные корни, кротовины, червороины, белоглазка, переход заметный по окраске.
	Bca	85-125	влажноватый, темно-бурый с серым оттенком, легкоглинистый, комковато-ореховатый, плотный, тонкопористый, тонкотрещиноватый, встречаются единичные корни, кротовины, червороины, белоглазка, переход заметный по окраске
	Cca	125-145	влажноватый, бурый, легкоглинистый, комковато-ореховатый, плотный, тонкопористый, тонкотрещиноватый, присутствуют кротовины, червороины, белоглазка