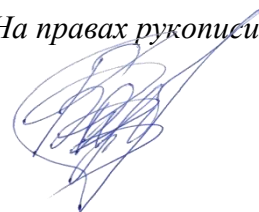


Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«ЮЖНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи



БАРБАШЕВ АНДРЕЙ ИГОРЕВИЧ

**ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИЕ АРОМАТИЧЕСКИЕ УГЛЕВОДОРОДЫ В СИСТЕМЕ
ПОЧВА – РАСТЕНИЕ ТЕХНОГЕННО-НАРУШЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ
РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ**

1.5.19. Почвоведение (биологические науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Ростов-на-Дону - 2026

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

**Научный
руководитель:**

Сушкова Светлана Николаевна,
доктор биологических наук, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южный федеральный университет», Академия биологии и медицины им. Д.И. Ивановского, кафедра почвоведения и оценки земельных ресурсов, профессор.

Официальные оппоненты:

Дымов Алексей Александрович,
доктор биологических наук, доцент, Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук», отдел почвоведения, ведущий научный сотрудник;

Богун Александр Геннадьевич,
кандидат биологических наук, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», лаборатория физиологии микроорганизмов, старший научный сотрудник.

Защита диссертации состоится «**17**» **сентября 2026** г. в **16:00** на заседании диссертационного совета ЮФУ801.01.13 по биологическим наукам на базе Академии биологии и медицины им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета по адресу: 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1, к. 5.

С диссертацией можно ознакомиться в Зональной научной библиотеке им. Ю.А. Жданова Южного федерального университета по адресу: 344090, г. Ростов-на-Дону, ул. Р. Зорге, 21Ж и на сайте Южного федерального университета <https://hub.sfedu.ru/diss/show/1356342/>

Автореферат разослан «___» _____ 2026 г.

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

Ученый секретарь
диссертационного совета, к.б.н.



Бурачевская Марина Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследований. Интенсивная антропогенная деятельность, сжигание органического топлива на объектах энергетики, работа нефтехимических производств и автотранспорта, приводит к аккумуляции опасных канцерогенов группы полициклических ароматических углеводородов (ПАУ). Основным соединением-маркером данной группы является бенз(а)пирен (БаП), предельно допустимая концентрация которого в почвах составляет 20 нг/г. Загрязнение почв ПАУ приводит к их аккумуляции в растениях, в том числе культурных видах, что снижает качество и безопасность продукции растениеводства и обуславливает их опасность для здоровья человека, что особенно актуально в регионах с развитым сельскохозяйственным производством, таких как Ростовская область.

Высокая устойчивость ПАУ к естественной деградации и их способность к длительной персистенции в почвах диктуют необходимость поиска эффективных и экологически безопасных подходов к реабилитации загрязненных территорий. Использование новых фундаментальных подходов, таких как шотган-метагеномное секвенирование, дает возможность подойти к вопросу ремедиации через глубокие знания о способности ПАУ-деградации у микроорганизмов на генно-оперонном уровне. Перспективными направлениями в этой области являются использование биочара - пористого углеродсодержащего материала с высокой сорбционной емкостью, способного иммобилизовать ПАУ в почвенном матриксе, а также применение микроорганизмов-деструкторов, которые метаболизируют ароматические кольца ПАУ, трансформируя их в менее токсичные соединения или полностью минерализуя до диоксида углерода и воды. Особый интерес представляет комбинированное применение биочара и бактериальных штаммов, при котором биочар выступает не только как сорбент, но и как носитель, создающий благоприятные условия для колонизации и метаболической активности микроорганизмов-деструкторов. Таким образом, комплексное изучение закономерностей накопления и трансформации ПАУ в системе почва – растение, разработка эффективных методов и научное обоснование подходов к ремедиации техногенно-нарушенных почв с использованием биочара и активизации микробных сообществ-деструкторов являются актуальными и востребованными задачами современного почвоведения.

Цель: изучить особенности аккумуляции ПАУ в системе почва – растение техногенно-нарушенных территорий Ростовской области.

Задачи:

1. Изучить уровни и состав соединений ПАУ в почвах и растениях техногенно-нарушенных территорий Ростовской области на примере импактных зон Новочеркасской ГРЭС и бывшего шламонакопителя.
2. Оценить таксономическое разнообразие микроорганизмов-деструкторов ПАУ в техногенно-нарушенных почвах путём анализа представленности генов и оперонов, ответственных за катаболизм ПАУ, на основе данных шотган-метагеномного секвенирования почвенных образцов.
3. Оценить эффективность применения биочара, а также микроорганизмов-деструкторов ПАУ при характеристике процессов деградации и трансформации состава соединений ПАУ в процессе ремедиации техногенно-нарушенных почв.

Научная новизна исследований.

В ходе исследования впервые установлены закономерности накопления, деградации и трансформации полициклических ароматических углеводородов в системе почва – растение двух техногенно-нарушенных зон различного характера загрязнения. В качестве объекта исследований выбраны почвы техногенно-нарушенных территорий, приближенных к двум различным источникам загрязнения: НчГРЭС, как зона аэротехногенного загрязнения от предприятия энергетической отрасли и высохшего озера Атаманское, являвшегося озером-шламонакопителем химкомбината Каменскволокно, как зона химического загрязнения.

Впервые в качестве метода оценки микробиома и генетического разнообразия почв, включая таксономическое разнообразие микроорганизмов-деструкторов ПАУ, для вышеперечисленных техногенно-нарушенных зон применен метод шотган-метагеномного анализа. Выявлены особенности генно-оперонного состава микробиома почв, ответственного за катаболизм ПАУ. Для основных деструкторов ПАУ в данных территориях, представленных родами *Gordonia*, *Variovorax*, *Chromobacterium*, *Rhodococcus*, *Azoarcus*, охарактеризованы гены и опероны катаболизма ПАУ. Выявлено, что плодородные чернозёмные почвы обладают избыточным генетическим потенциалом для трансформации и последующей деградации ПАУ. Данный генетический механизм сохраняется даже в отсутствие загрязнения. Научно подобран и обоснован в ходе проведения модельного эксперимента комплексный подход, позволяющий эффективно проводить ремедиацию ПАУ-загрязнённых почв с использованием биочара и бактериальных штаммов-деструкторов. Результаты показали, что разработанный метод ремедиации позволяет снизить содержание БАП в 6 раз и сократить период его полураспада до 139 дней. Выявлены изменения физиологических и биохимических показателей растений-индикаторов (максимальный квантовый выход фотосистемы II (ФС II), ферментативная активность почв, численность микроорганизмов) под действием ПАУ-загрязнения и в процессе ремедиации, что позволяет оценивать эффективность восстановительных мероприятий.

Положения, выносимые на защиту:

1. Содержание приоритетных ПАУ в почвах техногенно-нарушенных территорий зависит от типа техногенной нагрузки. Растения проявляют по отношению к полиаренам защитные механизмы, выражающиеся в ограничении аккумуляции наиболее опасных высокомолекулярных представителей ПАУ, что особенно выражено для видов полынь австрийская (*Artemisia austriaca* Jack.), мятлик луговой (*Poa pratensis* L.) и пырей ползучий (*Elytrigia repens* L.) и тростника южного (*Phragmites australis* Cav.). По способности к накоплению можно выстроить следующий убывающий ряд: полынь > пырей > мятлик > тростник.

2. Благодаря изучению генов и оперонов почвенных микроорганизмов, ответственных за деградацию ПАУ, становится возможным применение научно обоснованного комплексного подхода восстановления техногенно-нарушенных почв загрязнённых ПАУ на уровне целых функциональных генетических систем - оперонов. Такой подход позволяет целенаправленно стимулировать и поддерживать в почве полные метаболические пути катаболизма ПАУ, включая этапы гидроксирования, раскрытия ароматических колец и минерализации промежуточных продуктов. Наибольшее количество прочтений генов деструкции ПАУ принадлежит родам *Azoarcus*, *Gordonia*, *Chromobacterium*, *Rhodococcus* и *Variovorax*.

3. Наибольшая эффективность при ремедиации техногенно-нарушенных почв, загрязнённых ПАУ, установлена при внесении биочара, изготовленного из лузги подсолнечника. Данный сорбент способен иммобилизовать ПАУ в почвенном матриксе, а также снизить их биодоступность. Максимальный синергетический эффект достигается совместно с использованием микроорганизмов-деструкторов *Rhodococcus erythropolis* и *Pseudomonas putida*, метаболизирующих ароматические кольца ПАУ с их последующей минерализацией.

Теоретическая и практическая значимость.

Теоретическая значимость диссертации заключается в развитии фундаментальных представлений о поведении ПАУ в системе почва — растение на техногенно-нарушенных территориях, а также в научном обосновании новых подходов к их ремедиации. В работе теоретически обосновано, что использование новых фундаментальных подходов, таких как шотган-метагеномное секвенирование, дает возможность подойти к решению проблемы ремедиации почв через глубокие знания о способности микроорганизмов к деградации ПАУ на генном и оперонном уровнях. Это позволяет перейти от эмпирического подбора

штаммов-деструкторов к прогнозированию их метаболического потенциала на основе анализа генетических детерминант деструкции ароматических колец.

Развито теоретическое положение о перспективности двух взаимодополняющих направлений реабилитации загрязненных ПАУ почв: использование биочара как пористого углеродсодержащего материала с высокой сорбционной емкостью, способного иммобилизовать ПАУ в почвенном матриксе и снижать их биодоступность для растений и микроорганизмов, а также применение микроорганизмов-деструкторов, метаболизирующих ароматические кольца ПАУ с их полной минерализацией.

Результаты исследования могут быть использованы природоохранными организациями при проведении мониторинговых исследований, а также сельскохозяйственными предприятиями для оценки качества почв и растениеводческой продукции. Разработанные рекомендации по применению биочара и бактериальных штаммов могут быть внедрены в практику рекультивации земель, подвергшихся техногенному загрязнению ПАУ.

Степень достоверности. Достоверность полученных результатов обеспечивается соблюдением общепринятых методологических подходов в почвоведении, использованием гостированных методик, достаточным количеством полевых и лабораторных повторностей, а также применением методов статистической обработки экспериментальных данных.

Апробация результатов. Основные положения и результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на международных и всероссийских научных конференциях, форумах и съездах: VII Международной научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные аспекты геологии, геофизики и геоэкологии с использованием современных информационных технологий» (2023), V Международной научной конференции и VIII Всероссийском молодежном научном форуме «Наука будущего - наука молодых» (Москва, 2023), IX Всероссийской конференции с международным участием «Горные экосистемы и их компоненты» (Нальчик, 2024), Международной конференции «Проблемы и перспективы устойчивого развития почвенного покрова горных и равнинных территорий» (Геленджик, 2024), IX съезде Общества почвоведов им. В.В. Докучаева (Москва, 2024), XXXII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2025), Международной конференции «Водосбор-река-устье: исследования эрозии почв, русловых и устьевых процессов» (Ростов-на-Дону, 2025).

Публикации. По теме диссертационного исследования опубликовано 12 публикаций, в том числе 4 статьи, опубликованных в изданиях, входящих в базы данных международных индексов научного цитирования Web of Science и/или Scopus, 1 статья в журнале, индексируемых в РИНЦ, 1 статья в издании, включённом в Перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК РФ.

Личный вклад автора. Автором лично выполнены все этапы экспериментальных исследований, включая обработку, интерпретацию и обобщение полученных данных. Работа проведена в период с 2022 по 2026 год. Лабораторные исследования реализованы на базе кафедры почвоведения и оценки земельных ресурсов, а также в специализированных лабораториях «Здоровье почв» и «Интеллектуальные агроэкосистемы». Кроме того, измерения осуществлялись с использованием приборной базы Центра коллективного пользования «Биоинженерия почв», функционирующего в структуре Академии биологии и медицины им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета.

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, 3 глав, выводов и списка литературы. Работа изложена на 157 страницах, содержит 15 таблиц, 19 рисунков. Список литературы включает 285 источника, из них 241 на иностранном языке.

Соответствие паспорту специальности. Содержание диссертационного исследования полностью согласуется с областью научной специальности 1.5.19 Почвоведение, что подтверждается её соответствием трём ключевым направлениям паспорта специальности (пункты 6, 7 и 9): «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»; «Теоретические и научно-методические вопросы биологии и биохимии почв»; «Теоретические и научно-методические вопросы экологического почвоведения».

Финансовая поддержка работы. Работа была выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2025-667 от 06.08.2025 и соглашение № 075-15-2025-686 от 16 декабря 2025 г.), в рамках Программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030» в Южном федеральном университете, а также при поддержке Российского научного фонда (проект № 25-76-31013). Исследование поддержано грантом Президента Российской Федерации Образовательного Фонда «Талант и Успех» и стипендией Президента Российской Федерации для аспирантов и адъюнктов.

Благодарности. Автор благодарит доктора биологических наук, профессора Т.М. Минкину, старшего преподавателя И.В. Замулину, кандидата биологических наук, главного научного сотрудника С.С. Манджиеву, кандидата биологических наук, доцента А.В. Горовцова, научного сотрудника Т.С. Дудникову, доктора биологических наук, ведущего научного сотрудника Я.А. Делеган, кандидата технических наук, ведущего научного сотрудника Е.М. Антоненко, кандидата биологических наук, младшего научного сотрудника Н.Г. Васильченко и кандидата биологических наук, ведущего научного сотрудника Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО КФУ Т.В. Григорьеву за помощь в проведении аналитических исследований, ценные консультации и содействие на различных этапах выполнения работы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Глава содержит информацию о ПАУ, как приоритетных органических загрязнителей окружающей среды. Рассмотрено влияние ПАУ на живые организмы, прежде всего растения, методы ремедиации загрязненных почв. Подробно описаны преимущества использования биочаров и микроорганизмы в качестве ремедиантов загрязненных почв.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объект исследования

2.1.1. Мониторинг техногенно-нарушенных почв Ростовской области

Для достижения поставленной цели было заложено 10 стационарных площадок мониторинга, расположенных в пределах двух импактных зон (рис. 1). Первая расположена в зоне влияния Новочеркасской ГРЭС (1н-4н) - крупнейшего предприятия топливно-энергетического комплекса юга России. Почвенный покров исследованных территорий представлен, главным образом, черноземами обыкновенными (Haplic Chernozem по WRB, 2022). На площадках мониторинга доминируют многолетние травянистые растения. Основными доминантными видами растений в растительном покрове были: полынь австрийская (*Artemisia austriaca* Jack.), мятлик луговой (*Poa pratensis* L.) и пырей ползучий (*Elytrigia repens* L.). Вторая зона исследований расположена в пойме реки Северский Донец, на территории осушенного озера Атаманское, которое в период с 1950 по 1990 гг. функционировало как резервуар-накопитель (шламохранилище) жидких и твердых отходов химического комбината «Каменскхимволокно». Почвенный покров представлен техногенно-трансформированными почвами – хемоземами (Spolic Technosols по WRB, 2022). Растительный покров исследуемой территории представлен луговой сукцессией, находящейся на «климаксовой» стадии развития. Тростник южный (*Phragmites australis* Cav.) определен как монодоминантный вид для мониторинговых площадок территории бывшего озера Атаманское (2а–5а), и выполняет функцию ценозообразователя и определяет структурно-функциональную организацию фитоценоза (Minkina et al., 2018). Для оценки уровня загрязнения почв импактных зон была заложена площадка мониторинга на территории, характеризующейся охранным режимом почв, которая была выбрана в качестве объекта сравнения: 1) территория особо охраняемой природной территории (ООПТ) Персиановской заповедной степи; 2) Площадка мониторинга № 1а, представленная лугово-черноземной почвой (Stagnic Chernozems по WRB, 2022), была выбрана в качестве фоновой для оценки уровня загрязнения при сравнении почв импактной зоны природного отстойника химических отходов - оз. Атаманское. Отбор почвенных и растительных образцов осуществляли в соответствии с требованиями нормативных документов: ГОСТ 17.4.3.01-2017.

Свойства почв площадок мониторинга представлены в таблице 1. Импактная зона ГРЭС, а также фоновых территорий ООПТ и площадки мониторинга 1а характеризуются тяжелосуглинистыми почвами с нейтральной и слабощелочной рН. Почвы площадок мониторинга импактной зоны бывшего шламонакопителя являются преимущественно средними суглинками с кислой рН.

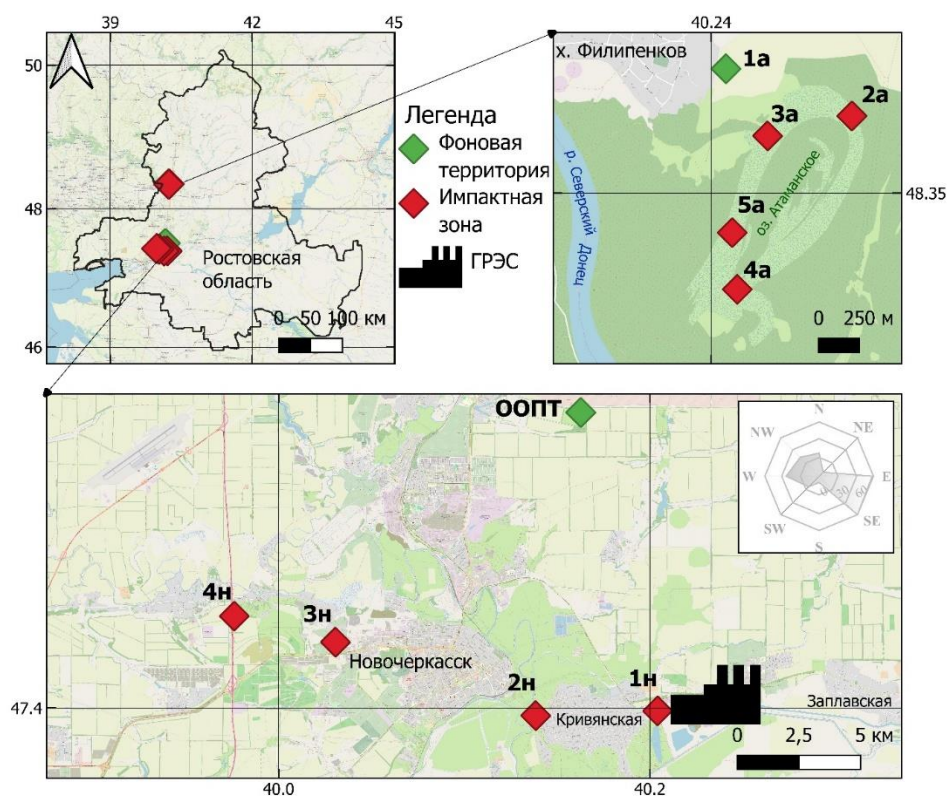


Рисунок 1 - Картосхема расположения площадок мониторинга

Таблица 1 - Свойства почв площадок мониторинга исследуемых территорий

№ площадки	Физическая глина	Ил	Гумус	CaCO ₃	pH
	%				
ООПТ «Персиановская заповедная степь»					
ООПТ	57,4±2,8	31,3±1,9	4,4±0,2	0,9±0,05	7,8±0,01
Импактная зона НчГРЭС					
1н	58,4±3,5	31,2±1,9	4,4±0,3	0,9±0,05	7,4±0,01
2н	56,2±3,1	32,9±2,0	4,7±0,3	0,9±0,05	7,9±0,01
3н	55,3±2,7	26,5±1,3	3,9±0,2	0,8±0,05	7,9±0,01
4н	53,5±2,6	26,7±1,6	3,9±0,3	0,7±0,05	7,7±0,01
Удаленная от шламонакопителя площадка мониторинга					
1а	53,1±2,6	32,4±1,9	3,5±0,2	1,7±0,10	7,7±0,01
Импактная зона бывшего шламонакопителя					
2а	37,6±2,2	16,4±1,0	3,1±0,2	0,1±0,01	4,0±0,01
3а	38,4±2,3	11,2±0,7	2,8±0,2	0,1±0,01	3,4±0,01
4а	52,1±3,1	23,0±1,4	4,4±0,3	1,1±0,08	7,7±0,01
5а	31,2±1,9	9,6±0,5	6,2±0,4	0,04±0,01	4,4±0,01

2.1.2. Модельный эксперимент по снижению содержания ПАУ в почве

С целью изучения воздействия штаммов-деструкторов на скорость разложения ПАУ в почвах был заложен модельный вегетационный эксперимент на хемоземе территории бывшего шламонакопителя в пределах осушенного оз. Атаманское, отобранного с площадки мониторинга 3а. Для эксперимента были выбраны пластиковые сосуды. Во всех сосудах установлена дренажная система. Каждый сосуд был заполнен 2 кг предварительно очищенной от различных включений, просеянной через сито с диаметром отверстий 3мм

почвы. В качестве ремедиантов в хемозем были внесены биочар из шелухи подсолнечника, полученный при температуре пиролиза 700 °С в дозе 5%, ПАУ-деградирующие бактерии *Rhodococcus erythropolis* и *Pseudomonas putida* в дозе 10¹⁰ КОЕ/кг, а также совместно биочар и микроорганизмы. Биочар смешивался с воздушно-сухой почвой, после чего в вегетационные сосуды послойно вносились почва и суспензия бактерий с помощью распылителя, что обеспечивало равномерное распределение микроорганизмов в вегетационном сосуде. Инкубационный период биочара и бактерий в хемоземе составил 1 месяц, проходил при температуре +20-22°С, естественном освещении. В подготовленные вегетационные сосуды производился посев 20 семян ярового ячменя сорта «Ратник» (*Hordeum sativum*). Растения выращивались в течение 35 суток. Опыт заложен в 3-х кратной повторности. Эксперимент проводился в однородной и гомогенизированной ростовой камере, где поддерживалась температура от 25 до 27±3°С. Нормальное освещение обеспечивалось при надлежащих аэробных условиях и относительной влажности. Влажность 60% в соответствии с максимальной емкостью водного поля поддерживали дистиллированной водой в течение всего периода инкубации.

Для выделения ПАУ-деградирующих микроорганизмов готовили накопительную (обогащённую) культуру. С этой целью навеску почвы вносили в жидкую минеральную среду, которая содержала ПАУ в качестве единственного источника углерода и энергии. В шейкере-инкубаторе Innova 40R (New Brunswick Scientific, США) проводили культивацию микроорганизмов при температуре 30 °С и постоянном перемешивании (170 об/мин) в течение 7 суток. Выбранный режим культивирования обеспечивал равномерное распределение питательных веществ и растворённого кислорода в жидкой среде, что создавало оптимальные условия для роста и метаболической активности аэробных микроорганизмов-деструкторов. Постоянное перемешивание предотвращало седиментацию бактериальных клеток и агрегацию биомассы, способствуя их равномерному доступу к субстрату. По завершении инкубационного периода накопительную культуру пересевали на чашки Петри, содержащие агаризованную минеральную среду. В состав питательной среды дополнительно вносили нафталин, который выступал в качестве единственного источника углерода и энергии. Посевы инкубировали в термостате при температуре 30 °С в течение 7 суток. Все посевы выполняли в трёх биологических повторностях для обеспечения статистической достоверности результатов и минимизации случайных ошибок. Далее из однотипных изолированных колоний проводили выделение чистых культур ПАУ-деградирующих бактерий, которые в большом количестве выросли на чашках Петри. После этого, изолированные колонии вновь переносили на жидкую среду Эванса с ПАУ в качестве единственного источника углерода для исключения роста за счет присутствующих в агаре примесей (Pulikova et al., 2025).

На основании комплексного подхода сочетающего генотипические и фенотипические методы анализа была проведена идентификация выделенных бактериальных штаммов, обладающих способностью к деградации ПАУ. Первый этап включал в себя выделение геномной ДНК. На втором этапе была проведена амплификация фрагмента гена 16S рРНК с использованием универсальных праймеров. Фенотипическая идентификация выполнялась методом MALDI-TOF масс-спектрометрии (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry), а способность к деградации ПАУ определялась по способности к росту на среде Ворошиловой-Диановой с использованием в качестве единственного источника углерода нафталина, фенантрена и пирена. В качестве сырья для получения биочара использовали лузгу подсолнечника (*Helianthus annuus L.*).

2.2. Методы исследования

2.2.1. Анализ содержания ПАУ в почвах и растениях

Извлечение ПАУ из образцов почв и растений осуществляли экологически безопасным методом субкритической водной экстракции. Экстракцию проводили с использованием оригинального экстракционного картриджа из нержавеющей стали

(Патент на полезную модель РФ № 125490 от 06.04.2012 г. «Реактор для проведения реакций в среде субкритической воды»). Параметры экстракции ПАУ соответствовали 30 минутам при температуре 250 °С, давлении до 50 атм (Сушкова, 2022). Анализ образцов проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе (ВЭЖХ) с флуориметрическим детектором (Agilent Model 1260, Германия, 2015). В исследуемых образцах почв и растений определяли следующие 12 приоритетных ПАУ (US EPA, 2020): нафталин, флуорен, антрацен, фенантрен, флуорантен, пирен, бенз(а)антрацен, бенз(б)флуорантен, бенз(к)флуорантен, бенз(а)пирен, дибенз(а, h)антрацен, бенз(г, h, i)перилен.

2.2.2. Методы экстракции ДНК и секвенирование

Тотальная ДНК была выделена из почвенных образцов проводили с использованием набора FastDNA SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, Великобритания) по стандартному протоколу производителя, а концентрация препаратов составляла не менее 100 нг/мкл (Делеган, 2025). На приборе Covaris S220 проводили фрагментацию ДНК ультразвуком, а контроль качества библиотек осуществляли на приборе 2100 Bioanalyzer (Agilent). Количественную оценку содержания ДНК в пробах проводили с помощью флуориметрического метода на приборе Qubit 2.0. Последовательность выделенной тотальной ДНК была получена методом шотган-секвенирования с использованием системы NextSeq 500 (Illumina). Количество прочтений не менее 90 млн рид на образец.

Информация об оборудовании, на котором выполняли анализ и обработку данных: CPU: 12 VCPU, RAM: 96 GB, GPU: NVIDIA GeForce 1080 Ti (12 GB VRAM), OS: Ubuntu Server 18.04. Контроль качества и биоинформатическая обработка результатов секвенирования: полученные одноконцевые прочтения прошли контроль качества с помощью программы FastQC v.0.11.9. Адаптерные последовательности и нуклеотиды с качеством Q<20 были удалены из прочтений Illumina инструментом Trimmomatic 0.39. Прочтения имеют длину 74-76 п.н., параметры фильтрации: LEADING:20 TRAILING:20 SLIDINGWINDOW:4:20 MINLEN:36.

Прочтения, соответствующие человеческой ДНК, удаляли, используя программу BMTagger (Rotmistrovsky, Agarvala, 2011). Выполняли функциональную аннотацию с помощью KEGG (October release 2018) (Kanehisa, 2000) и diamond version v2.0.13 (Buchfink et al., 2015), таксономическая классификация была выполнена с помощью kaiju version 1.7.3 (Menzel et al., 2016). Сборку выполняли с помощью megahit ver. 1.2.9. Контиги короче 300 bP удаляли. Полноту использования сырых прочтений в сборке оценивали посредством картирования фильтрованных прочтений на сборку с помощью bowtie2 (very sensitive local), некартированные прочтения записывали и анализировали отдельно.

2.2.3. Метод получения биочара

Экспериментальные образцы биочара получали методом термического разложения (пиролиза) лузги подсолнечника в стальной реторте, помещенной в муфельную печь с программируемым температурным режимом, при температуре 700°C, времени выдержки 15 минут и скорости нагрева 15°C/мин. Объем пор и площадь удельной поверхности биочара составила 0,81 см³/г и 440 м²/г, соответственно. На основании определенного элементного состава биочара были рассчитаны атомные отношения Н/С и О/С, которые составляли от 0,47 и 0,14, соответственно.

2.2.4. Методы определения физиолого-биохимических и морфометрических параметров растений и почвенной микробиоты

Изменение основных морфофизиологических характеристик ячменя ярового определяли на основе подсчета и анализа морфобиометрических параметров согласно общепринятым методикам (Церлинг, 1990). Параллельно проводили оценку влияния ПАУ на функциональную активность фотосинтетического аппарата растений, а именно – на максимальный квантовый выход ФСII. Измерение фотохимического квантового выхода ФСII (F_v/F_m) осуществляли методом ИФХ-флуориметрии с использованием портативного флуориметра Diving-PAM (Гольцев и др., 2014).

2.2.5. Расчетные методы

Для оценки устойчивости степных растений к загрязнению ПАУ были рассчитаны коэффициент накопления (КН) и акропетальный коэффициент (АК):

$$КН = \frac{C_{\text{корень}}}{C_{\text{почва}}} \quad (1)$$

$$АК = \frac{C_{\text{стебель}}}{C_{\text{корень}}} \quad (2)$$

где $C_{\text{почва}}$ - концентрация ПАУ в почве, $C_{\text{стебель}}$ - концентрация ПАУ в стебеле;
 $C_{\text{корень}}$ - концентрация ПАУ в корне

Для изучения скорости разложения поллютантов в почве под влиянием биочара и микроорганизмов отдельно и совместно проведен расчет константы разложения (K_p) и периода полуразложения (T_{50}) ПАУ.

$$K_p = -\ln \left(\frac{C_t}{C_{\text{исх}}} \right) / t \quad (3)$$

где $C_{\text{исх}}$ - исходная концентрация ПАУ в почве, C_t - концентрация в момент отбора образцов модельного эксперимента, t - время экспозиции.

$$T_{50} = 0,693 / K_p \quad (4)$$

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием программ Statistica 7 и Sigmaplot 12.5, Microsoft Excel 2018.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Результаты мониторинга ПАУ на техногенно-загрязненных территориях

Суммарное содержание ПАУ в фоновых почвах площадок, расположенных на удалении от импактных зон, составило 188 нг/г (ООПТ) и 357 нг/г (1а) (табл. 2). Наблюдается убывающий ряд по содержанию ПАУ различной кольчатости в изученных фоновых почвах: 3-х > 4-х > 2-х > 5-ти > 6-ти кольчатые.

Суммарное содержание ПАУ в почвах импактной зоны НчГРЭС в 6-20 раз выше, чем в почве ООПТ и образует следующий убывающий ряд: 3840 нг/г (1н 1,6 км СЗ) > 1729 нг/г (2н 6,9 км СЗ) > 1515 нг/г (3н 15,0 км СЗ) > 1056 нг/г (4н 20,0 км СЗ). Характер распределения ПАУ в почвах соответствует пирогенно-угольной ассоциации, так как в составе ПАУ преобладают соединения с 4-мя бензольными кольцами - 409-1355 нг/г, а их содержание убывает по мере удаления от НчГРЭС. Помимо 4-х кольчатых соединений ПАУ, весомый вклад в суммарное содержание полиаренов вносят бенз(б)флуорантен, бенз(г,х,и)перилен и фенантрен (рис. 2). Содержание других соединений ПАУ не превышает 80 нг/г. Исключением является БаП, содержание которого в почве площадки мониторинга 1н составляет 355 нг/г, что превышает предельно допустимую концентрацию ПДК для почв в 18 раз (ГН 2.2.5.686-98, 1998). С удалением от источника загрязнения содержание БаП в почве снижается и соответствует 7,7, 3,5 и 2,5 ПДК БаП, соответственно.

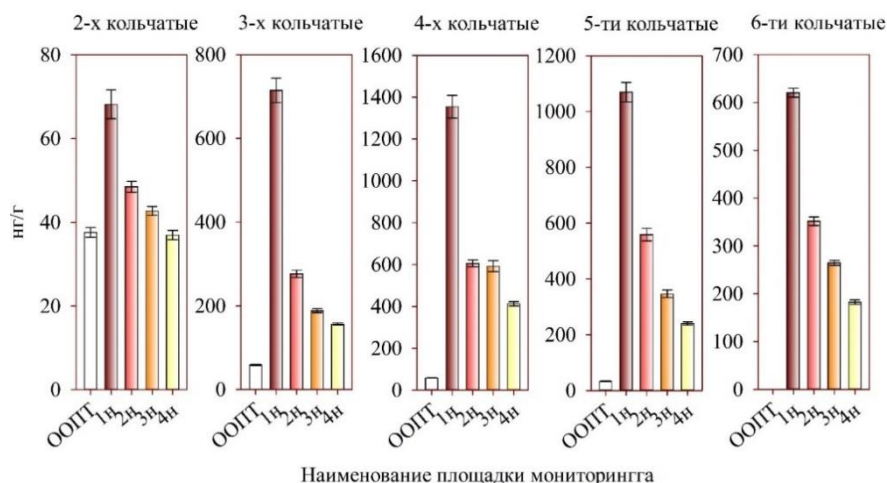


Рисунок 2 - Суммарное содержание ПАУ с одинаковым количеством колец в почвах площадок мониторинга импактной зоны НчГРЭС

Несмотря на прекращение использования территории оз. Атаманское в качестве накопителя жидких промышленных стоков более двух десятилетий назад, хемоземы данного природного отстойника химических отходов по-прежнему характеризуются крайне высоким содержанием ПАУ. Содержание ПАУ в хемоземах в 9-13 раз выше, чем в почве удаленного участка площадки мониторинга 1а, и составляет 3276,6 – 4786,7 нг/г. В составе ПАУ преобладают 5-ти кольчатые соединения, представленные преимущественно бенз(б)флуорантеном и дибенз(һ,а)антраценом (рис. 3). Выявлено превышение ПДК БаП в 7,7-14,4 раза в почвах мониторинговых площадок территории озера Атаманское.

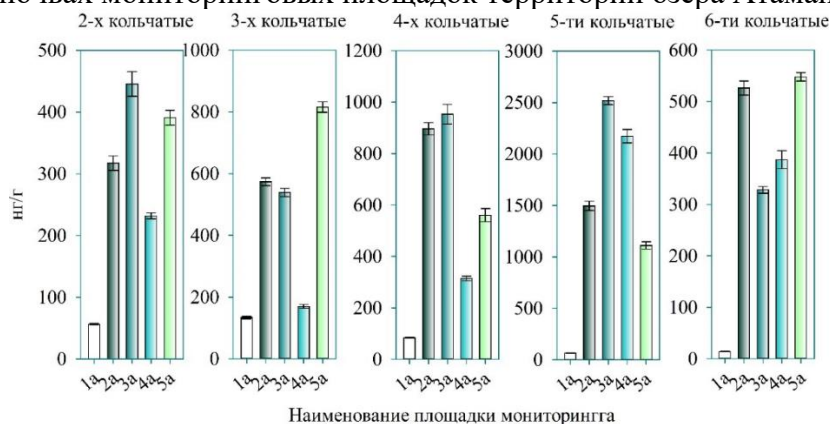


Рисунок 3 - Суммарное содержание ПАУ с одинаковым количеством бензольных колец в почвах площадок мониторинга импактной зоны бывшего шламонакопителя

Суммарное содержание ПАУ в корнях растений фоновой участка ООПТ составляет 61,4 нг/г, а в стеблях 15,3 нг/г. Для различных частей растений характерно накопление 2-х кольчатых ПАУ, преимущественно, нафталина (20-23 нг/г), и 3-х кольчатых полиаренов, преимущественно, фенантрена (5-18 нг/г). Содержание 4-х кольчатых ПАУ не превышало 7 нг/г, а 5-ти и 6-ти кольчатых ПАУ - 1 нг/г. Содержание ПАУ в растениях, произрастающих на территории импактных зон выше, чем в растениях фоновой территории ООПТ и площадки 1а. В целом, в условиях одного и того же уровня загрязнения почв, по способности аккумулировать поллютанты растения располагаются в следующем убывающем ряду: полынь > пырей > мятлик > тростник.

Суммарное содержание ПАУ в корневой части растений импактной зоны НчГРЭС выше, чем в растениях ООПТ в 3,1-7,0 раз, и варьирует от 256-429 нг/г - для полыни, 167-255 нг/г - для мятлика и пырея. Содержание поллютантов в надземной части растений ниже, чем в корневой, и составляет 157-300 нг/г - для полыни, 48-115 нг/г - для мятлика и пырея

(рис. 4). Для всех видов растений импактной зоны НчГРЭС характер накопления полиаренов соответствует следующему убывающему ряду: 4-х > 3-х > 2-х > 5-ти > 6-ти кольчатые ПАУ. При этом 70-82% от суммарного содержания полиаренов в различных частях растений приходится на флуорантен, пирен, бенз(а)антрацен и фенантрен. Накопление остальных ПАУ корневой частью растений не достигает 30 нг/г, надземной - 10 нг/г. Тростник, произрастающий на территории импактной зоны НчГРЭС (площадка 2н), накапливает ПАУ в меньшей степени, чем другие виды.

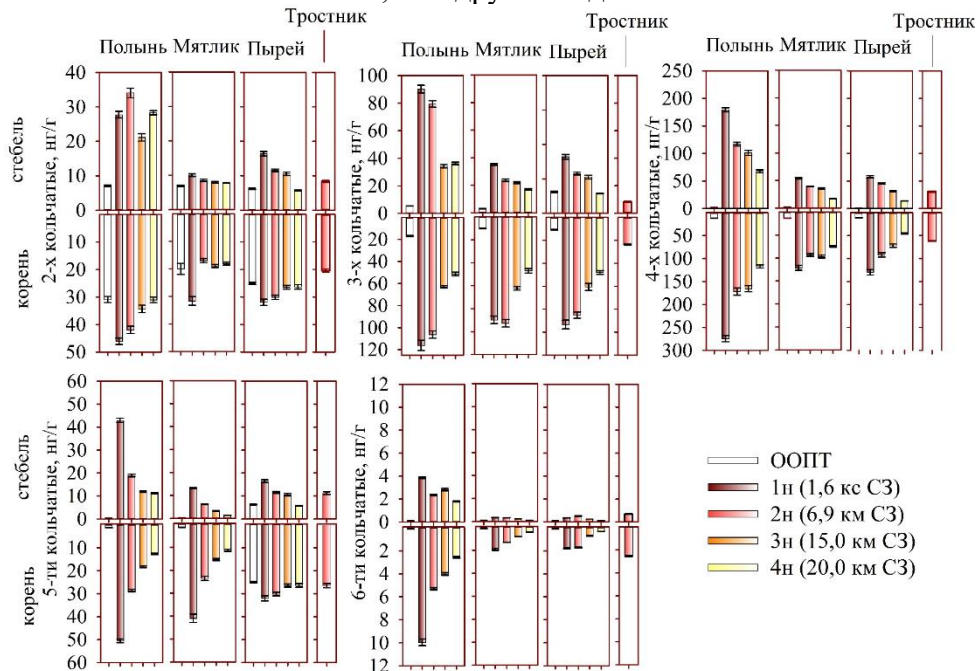


Рисунок 4 - Содержание ПАУ с одинаковым количеством колец в различных частях травянистых растений площадок мониторинга импактной зоны НчГРЭС

Суммарное содержание ПАУ в корневой части тростника, произрастающего непосредственно на территории бывшего шламонакопителя (площадки 2а-5а), выше в 2,6-5,8 раза, а в надземной части - в 3,4-8,4 раза, по сравнению с растениями площадки 1а, находящейся на удалении 700 м от импактной зоны. Несмотря на более высокий уровень ПАУ-загрязнения хемоземов, содержание ПАУ в корневой системе тростника южного импактной зоны шламонакопителя близко к значениям, полученным для растений менее загрязненной импактной зоны ГРЭС и варьирует в интервале 169–383 нг/г. В надземной части тростника содержание ПАУ составляет 43–106 нг/г. Распределение ПАУ в тканях тростника соответствует следующему убывающему ряду: 4-кольчатые > 2-кольчатые > 3-кольчатые > 5-кольчатые > 6-кольчатые соединения. Максимальные концентрации в корнях растений зафиксированы для нафталина (до 91 нг/г), фенантрена (до 66 нг/г) и пирена (до 72 нг/г). В надземной части тростника доминирующими соединениями являются нафталин (до 20 нг/г) и пирен (до 27 нг/г). Содержание остальных исследованных ПАУ в вегетативных органах не превышало 10 нг/г. В целом, накопление других исследуемых ПАУ не превышает 20 нг/г в корневой части и 10 нг/г в надземной части естественной травянистой растительности (рис. 5).

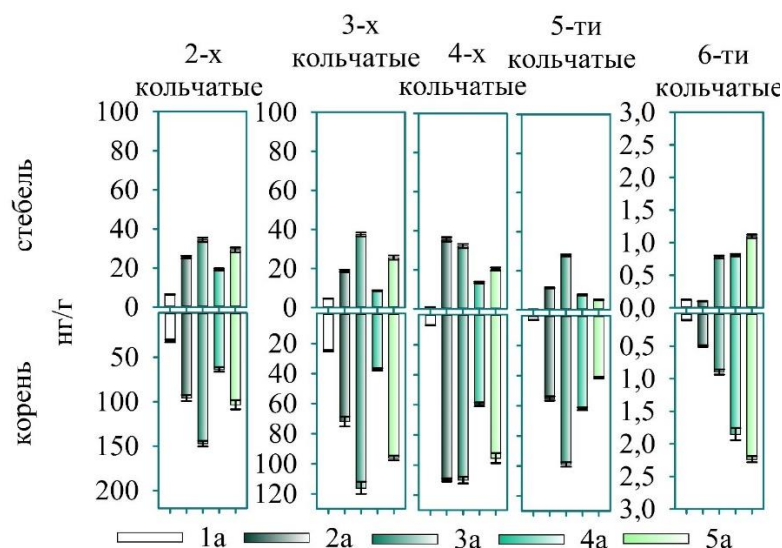


Рисунок 5 - Содержание ПАУ с одинаковым количеством колец в различных частях тростника площадок мониторинга импактной зоны бывшего шламонакопителя

Согласно результатам многомерного линейного уравнения регрессии, содержание ПАУ в корневой части растений увеличивается на 0,7% при увеличении содержания ПАУ в почве на 1%, и уменьшается на 1,5% с увеличением коэффициента липофильности молекулы ПАУ на 1 единицу (рис. 6). Полученная модель объясняет 55% (R^2) дисперсии (при $n=208$ и p -уровне $< 0,001$). В независимости от уровня и характера загрязнения импактных зон, а также видовой принадлежности растений, величины КН и АК полиаренов были < 1 , что свидетельствует о высокой устойчивости естественной травянистой растительности по отношению к ПАУ. Защитные механизмы растений по отношению к поллютантам усиливаются с увеличением липофильности, что выражается в уменьшении значений величин КН и АК.

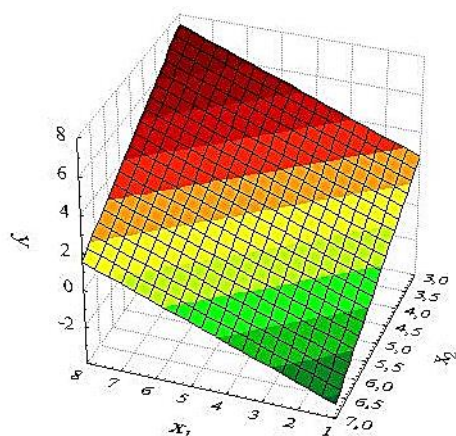


Рисунок 6 - Накопление поллютантов в корневой части растений в зависимости от липофильности молекул ПАУ и уровня загрязнения почвы

Примечание: y - $\ln$ содержания ПАУ в корне, x_1 - $\ln$ содержания ПАУ в почве, x_2 - коэффициент липофильности ПАУ

Таблица 2 - Содержание индивидуальных соединений ПАУ в почвах площадок мониторинга импактной зоны НчГРЭС и бывшего шламонакопителя

Наименование площадк и мониторинга	2-х кольчатые	3-х кольчатые			4-х кольчатые			5-ти кольчатые				6-ти кольчатые	Сумма ПАУ
	нафталин	антрацен	флуорен	фенантрен	бенз(а)ант ацен	пирен	флуоранте н	бенз(б)флуо рантен	бенз(к)фл уорантен	бенз(а)пир ен	дибенз(а,һ)антрацен	бенз(ɡ,һ,і) перилен	
Импактная зона НчГРЭС													
ООПТ	24,0±0,7	0,4±0,03	8,8±0,4	49,4±1,9	3,6±0,2	30,3±1,2	24,3±1,2	10,2±0,6	5,7±0,5	17,6±1,5	0,2±0,02	0,3±0,03	174,8
1н	25,0±1,3	28,9±1,7	13,7±0,6	667,4±40,0	311,2±18,7	470,4±23,5	573,4±37,4	401,6±21,9	138,4±7,5	354,9±20,6	189,2±12,9	622,3±47,7	3796,4
2н	30,0±1,2	32,7±1,6	23,0±1,4	217,4±13,0	164,7±11,5	198,6±14,7	248,2±16,2	263,8±14,4	70,9±4,6	154,1±9,1	70,5±4,8	353,2±26,4	1827,1
3н	26,0±1,8	22,6±0,9	15,9±0,6	150,5±9,0	91,3±5,4	253,0±19,2	245,8±13,3	181,6±11,8	56,1±3,0	69,9±6,1	37,0±2,6	264,6±17,8	1414,3
4н	25,7±1,5	24,5±1,2	8,5±0,5	123,5±6,2	63,2±4,1	175,2±9,9	170,2±9,2	125,7±7,8	38,8±1,94	48,4±2,3	25,6±1,9	183,2±8,8	1012,5
Импактная зона бывшего шламонакопителя													
1а	37,0±1,5	15,0±0,9	18,8±1,3	101,0±7,1	21,7±1,7	43,0±3,4	20,0±13,4	28,1±1,3	12,6±0,7	17,8±1,3	7,8±0,4	14,0±0,9	336,8
2а	137,8±11,0	81,9±3,3	117,1±5,9	378,7±18,9	79,7±4,8	599,5±37,8	208,4±11,6	577,2±26,3	292,4±16,5	223,3±13,1	413,2±23,4	521,1±33,4	3630,3
3а	276,4±19,3	52,9±2,1	127,0±7,6	360,8±14,4	218,3±15,3	426,0±19,4	302,5±19,8	1285,2±71,2	352,8±23,9	286,9±18,9	602,1±41,3	328,2±22,6	4619,1
4а	143,6±8,6	30,5±1,5	28,1±1,9	109,5±5,4	76,4±3,8	160,1±7,7	80,4±3,9	782,4±34,2	236,6±15,5	164,6±10,8	989,4±56,0	385,6±23,1	3187,2
5а	236,1±16,5	142,2±8,5	174,4±8,7	493,9±19,8	97,0±4,9	249,0±16,3	216,8±11,8	463,3±30,1	210,9±13,9	135,6±10,3	286,9±15,9	549,9±37,3	3256,0

3.2. Способность микроорганизмов к разложению стойких высокотоксичных органических соединений и их устойчивости при разных техногенных нагрузках

Установлено, что наибольшее количество прочтений, соответствующих генам деструкции ПАУ, найденным во всех пробах, принадлежит родам *Azoarcus*, *Gordonia*, *Chromobacterium*, *Rhodococcus* и *Variovorax*. Максимальное количество прочтений составило 463 и соответствует *Gordonia* в пробе 4А (рис. 7).

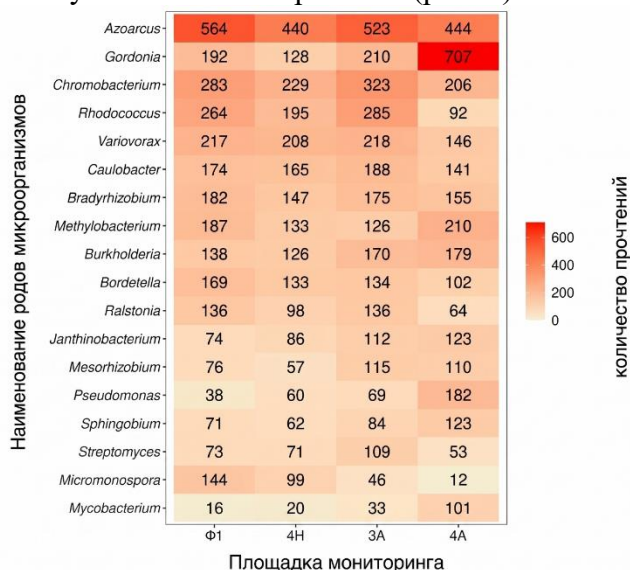


Рисунок 7 - Тепловая карта, показывающая количество прочтений, соответствующих генам/операонам катаболизма ПАУ.

Примечание: цветовая шкала от жёлтого до красного - количество прочтений от меньшего к большему

Инициация микробной деградации ПАУ происходит под действием мультикомпонентных диоксигеназ либо реализуется через последовательное монооксигенирование ароматического кольца с образованием диолов, за которым следует дегидрогенирование двух соседних гидроксильированных атомов углерода.

Генный кластер *nar* у *гордоний* состоит из следующих элементов: рубредоксин, *NarR1* (*GntR*-подобный регулятор), *NarR2* (*XylR*-подобный регулятор), *Orf7* (функция не определена), *NarAa* и *NarAb* - субъединицы нафталин диоксигеназы, *NarB* - нафталин дигидродиол дегидрогеназа, *NarC* - гидратаза-альдолаза. Анализ последовательности региона, находящегося *upstream* гена *NarAa* выявил, что между предсказанными -10 и -35 участками промотора присутствует консервативный регион.

Среди бактерий в пробах Ф1, 4Н, 3А, 4А можно выделить 5 доминирующих филумов: *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Chloroflexi*, *Firmicutes* и *Proteobacteria* (рис. 8). Наибольшую численность имеют актинобактерии, процент которых варьирует от 45% до 54%, что обусловлено приспособленностью многих представителей данного типа к высокой антропогенной нагрузке. Вторым по доминированию филумом является *Proteobacteria* (24 - 31%).

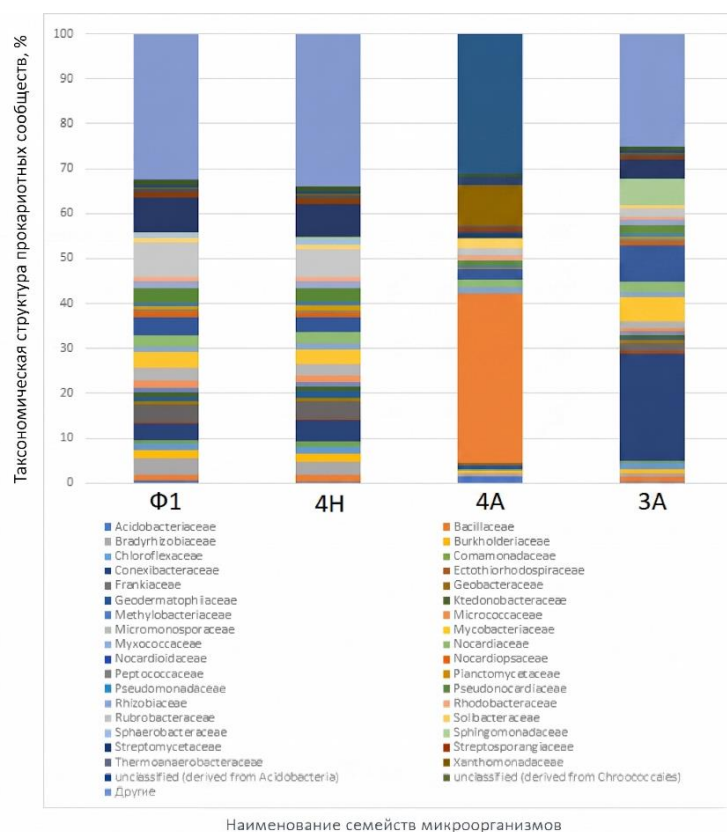


Рисунок 8 - Таксономическая структура (на уровне семейств) прокариотных сообществ изучаемых площадок мониторинга

Таксономический бактериальный профиль во всех образцах, кроме 4А, относительно схож, в последнем наблюдается увеличение доли *Acidobacteria* до 14%, что скорее всего обусловлено слабокислой реакцией среды (рис. 9).

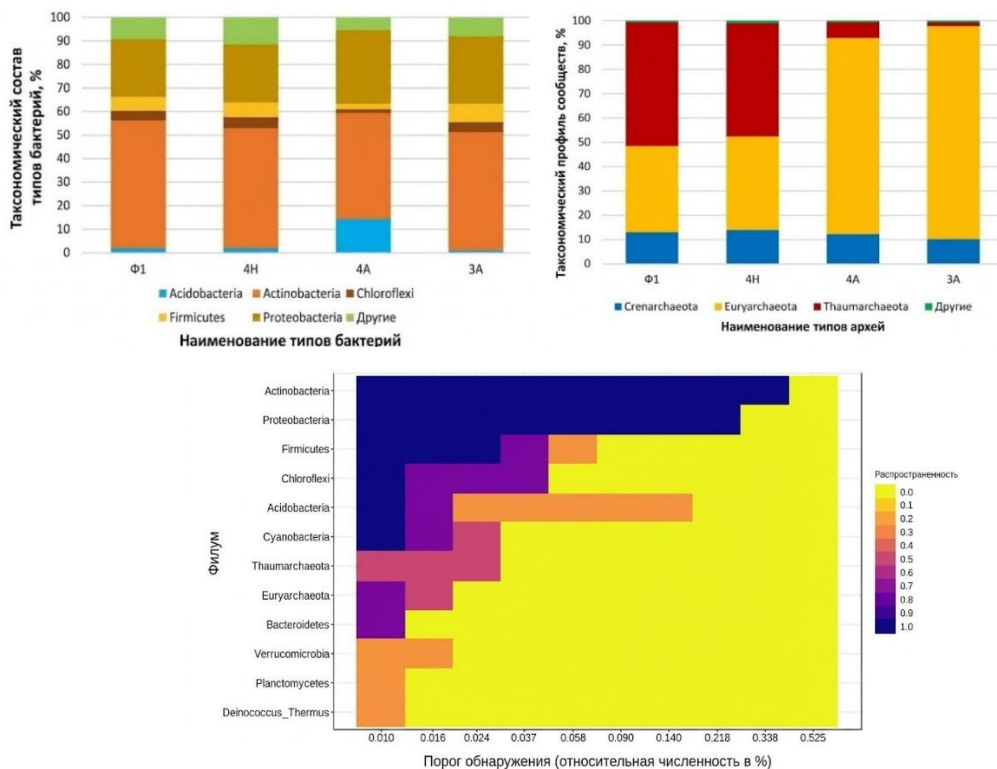


Рисунок 9 - Бактериальный и архейный профили сообществ изучаемых площадок мониторинга

Сообщества площадок мониторинга 4Н и Ф1 характеризуются высоким микробным разнообразием, как и сообщество фоновой территории. В пробах 3А и 4А равное обилие видов не обнаружено. В сообществе площадки мониторинга 4А преобладает доля семейства *Mycobacteriaceae* (36%), в образце 3А доминируют представители семейства *Conexibacteraceae* (15%).

В почвенных образцах Ф1, 4Н, 3А и 4А было определено нормализованное количество основных генов, которые ассоциированы с катаболизмом ПАУ (табл. 3). Количество генов сопоставимо в исследуемых пробах почв, что свидетельствует об отсутствии влияния загрязнения на формирование данного пула.

Таблица 3 - Нормализованное количество основных генов катаболизма ПАУ в образцах

Номер площадк и мониторинга	Гены катаболизма ПАУ						Количество генов с присвоенным номером КО
	Rieske 2Fe-2S domain-containing protein	FAD dependent oxidoreductase	nahY (белок хемотаксиса)	nagA (нафталин диоксигеназа)	homogenisate 1,2-dioxygenase	nagG_1 (салицилат гидроксилаза)	
	КО 05710	КО 00111	КО 03406	КО 01443	КО 00451	КО 00499	
3А	7	15	4	11	6	7	13226
4А	11	6	5	4	5	2	8085
Ф1	12	16	6	12	5	4	14844
4Н	8	15	3	5	8	4	13322

Полученные данные позволяют предположить, что плодородные черноземные почвы, служат естественным резервуаром генетического разнообразия, включая гены деградации ксенобиотиков. В отсутствие стрессового воздействия микробные сообщества поддерживают функционально избыточные генетические системы, которые в данный момент могут не экспрессироваться, но сохраняются в метагеноме как «генетический резерв». Такое генетическое разнообразие обеспечивает высокий адаптационный потенциал микробного сообщества: при поступлении ПАУ в почву в результате техногенной эмиссии происходит быстрая активация соответствующих генетических систем, что позволяет сообществу эффективно адаптироваться к загрязнению без угнетения его общей численности и функциональной активности.

3.3. Результаты модельного эксперимента

3.3.1. Содержание ПАУ в почве и растениях модельного эксперимента

В ходе проведенного модельного эксперимента установлено, что интродукция штаммов бактерий-деструкторов ПАУ в загрязненную почву обеспечивает более эффективную деградацию данных соединений по сравнению с внесением одного лишь биочара. При этом максимальное снижение содержания ПАУ была достигнута в варианте, предполагающем совместное применение бактериального консорциума и биочара. В данном варианте содержание ПАУ снизилось в 5,8 раз с 6260 нг/г до 1078 нг/г, а содержание БАП - в 6 раз с 743,6 нг/г до 124 нг/г по сравнению с исходно загрязненным хемоземом (рис. 10).

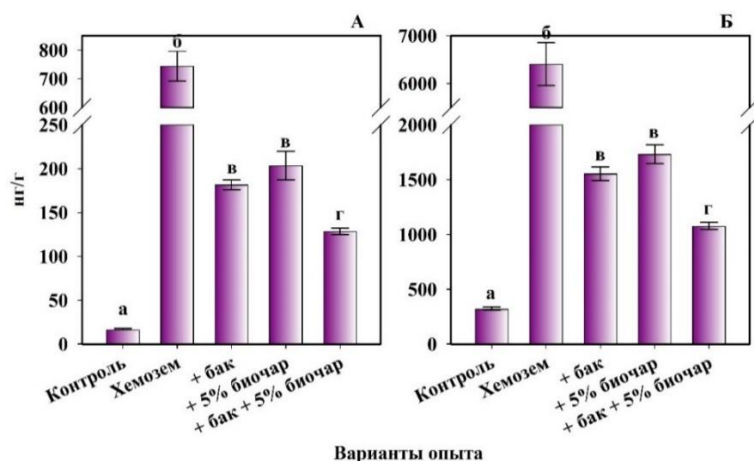


Рисунок 10 - Содержание БаП (А), суммарное содержание ПАУ в хемоземе (Б)

Примечание: буквами отмечены достоверные различия ($p < 0,05$), полученные в результате расчета критерия Стьюдента; бак – бактерии

При этом в варианте с комбинированным внесением ремедиантов период полуразложения БаП (T_{50}) снизился до 139 дней по сравнению с загрязненным хемоземом, в котором T_{50} БаП составил 2567 дней. Варианты «хемозем + бактерии» и «хемозем + биочар» также показали ускорение сроков деградации БаП до 172 и 187 дней, соответственно. Вследствие наиболее эффективного удаления поллютантов из хемозема при комбинированном внесении бактерий и биочара растения (ячмень) накапливали ПАУ в меньших количествах по сравнению с вариантами, где применялся только один из компонентов ремедиации.

Содержание БаП в корневой и вегетативной частях ячменя в контрольном варианте составило 1,5 нг/г и 1,1 нг/г, соответственно. Установлено среднее суммарное содержание 12 приоритетных ПАУ для контрольного варианта, которое не превышало 125 нг/г в корнях и 74 нг/г в стеблях (табл. 4). В варианте с хемоземом, не подвергавшегося ремедиационному воздействию, зафиксирован значительный рост накопления поллютантов в тканях растений. Содержание бенз(а)пирена в корневой системе достигало 85 нг/г, в то время как в стеблях его содержание увеличилось до 41 нг/г. Суммарное количество 12 приоритетных ПАУ в корневой части растений возросло до 954 нг/г, а в надземной — до 568 нг/г.

Таблица 4 - Содержание БаП и суммарное содержание ПАУ в корневой и надземной частях ячменя, произрастающего на хемоземе

Варианты опыта	БаП		Сумма ПАУ	
	Корень	Стебель	Корень	Стебель
Контроль	1,5±0,1	1,1±0,1	125±5,6	74±3,6
Хемозем	85±3,0	41±1,7	954±50,1	568±45,5
Хемозем + бактерии	30±0,9	26±1,2	278±12,3	194±8,4
Хемозем +5% биочар	35±2,3	25±1,2	301±14,7	206±6,3
хемозем + бактерии + 5% биочар	28±1,0	15±0,5	154±6,5	62,3±2,8

Внесение бактериальных штаммов-деструкторов или биочара по отдельности приводило к снижению содержания ПАУ в растениях. В условиях совместного внесения, содержание БаП в корневой системе ячменя сократилось до 28 нг/г, а в стеблях - до 15 нг/г; суммарное содержание 12 приоритетных ПАУ снизилось до 154 нг/г в корнях и до 62 нг/г в надземной части растений, соответственно

3.3.2. Морфобиометрические показатели растений

Установлено, что длина корней и стеблей у ячменя контрольного варианта составляет 14,9 см и 30,4 см соответственно (рис. 11). С помощью однофакторного дисперсионного ANOVA с последующим применением критерия Тьюки при уровне показано, что растения, произрастающие на хемоземах, имеют значительно меньшую длину корней ($F=38.0$, $p<0.00001$) и надземной части ($F=190,1$, $p<0.001$) по сравнению с контрольным вариантом, со средней разницей 5,4 см и 5,8 см, соответственно. Используемые методы рекультивации значительно снижают токсичность хемоземов до уровня контрольных значений. Наилучший результат достигается при внесении биочара в хемозем вместе с бактериями.

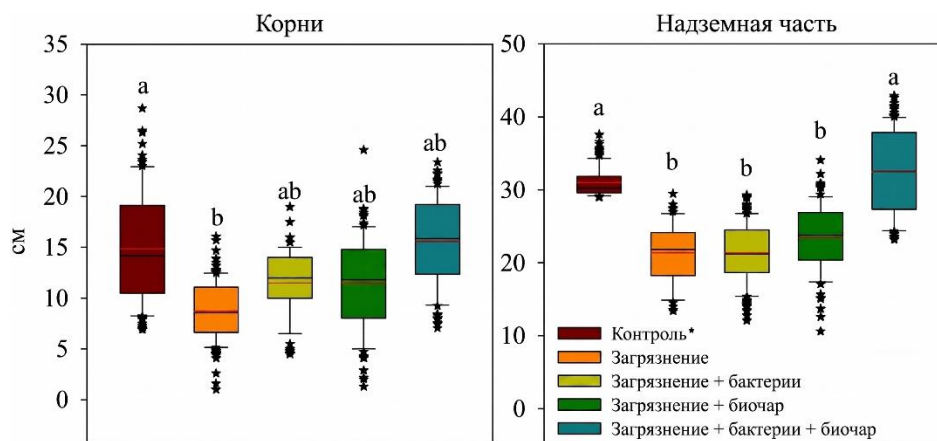


Рисунок 11 - Морфобиометрические показатели ячменя на различных вариантах опыта
Примечание: разные буквы указывают на значимые различия ($p < 0,05$), полученные в результате теста Тьюки - достоверно значимые различия (HSD)

3.3.3. Квантовый выход фотосистемы II растений модельного эксперимента

В первый период измерений (14-е сутки вегетации) у растений ячменя контрольного варианта максимальный квантовый выход ФС II (F_v/F_m) составил 0,81. В норме показатель F_v/F_m для здоровых растений составляет 0,80–0,85; его снижение указывает на нарушение первичных процессов фотосинтеза. При произрастании на загрязненном ПАУ хемоземе (без проведения ремедиации) у ячменя зафиксировано статистически значимое снижение максимального квантового выхода F_v/F_m по сравнению с контрольными растениями. Применение ремедиационных агентов – биочара и бактериальных штаммов-деструкторов (как по отдельности, так и в комбинации) – способствовало увеличению максимального квантового выхода F_v/F_m до уровня, сопоставимого с контрольными значениями (рис. 12).

Во второй период (28-е сутки вегетации) зафиксировано снижение максимального квантового выхода ФС II (F_v/F_m) во всех экспериментальных вариантах. Наиболее выраженное падение показателя отмечено для варианта с загрязнением: значение F_v/F_m снизилось до 0,60. Данный факт свидетельствует о прогрессирующем повреждении реакционных центров ФС II под действием длительного ПАУ-загрязнения, что сопровождается нарушением первичных процессов фотосинтеза, снижением эффективности преобразования световой энергии и, как следствие, угнетением ростовых процессов растений.

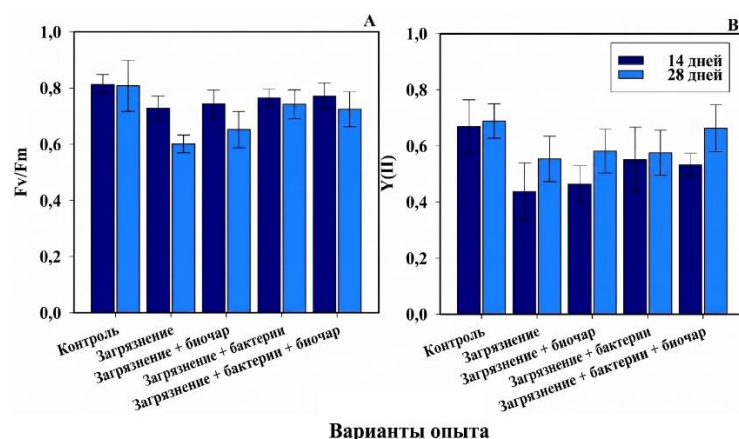


Рисунок 12 - Максимальный квантовый выход ФС II (А) и эффективный квантовый выход ФС II (В) растений модельного эксперимента

3.3.4. Количество и состав микроорганизмов в почве модельного эксперимента

Установлено, что в загрязненном ПАУ хемоземе без проведения ремедиационных мероприятий численность микромицетов и оказалась наибольшей по сравнению с фоновым образцом. При внесении в загрязненную почву внешних бактериальных штаммов-деструкторов отмечено снижение численности микромицетов по сравнению с вариантом без ремедиации. При внесении биочара, а также при комбинированном внесении бактерий и биочара, количество микромицетов оставалось примерно на одинаковом уровне (рис. 13). При оценке численности колоний бактерий и актиномицетов во всех экспериментальных вариантах установлено, что их количество достоверно выше в образцах, обработанных бактериальными штаммами-деструкторами.

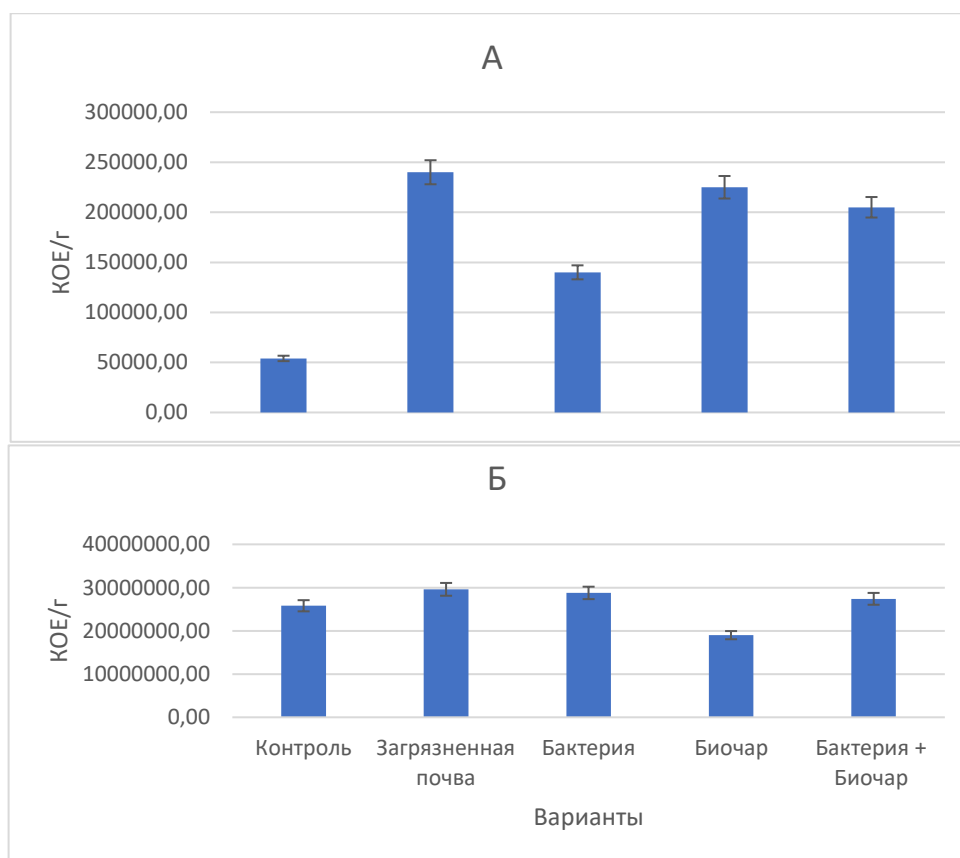


Рисунок 13 - Численность микромицетов (А) и численность бактерий и актиномицетов (Б) в хемоземе

ВЫВОДЫ

1. Состав, уровень содержания и пространственное распределение ПАУ в почвах различается в зависимости от типа техногенной нагрузки. В техногенно-нарушенных почвах импактной зоны Новочеркасской ГРЭС полиарены накапливаются преимущественно в 7 км по направлению преобладающих ветров доминируют 4-кольчатые соединения, а содержание БаП превышает ПДК до 17 раз. В хемоземах бывшего шламонакопителя содержание полиаренов превышает фоновые значения в 9-13 раз, в структуре загрязнения доминируют 5-кольчатые соединения.

2. Содержание ПАУ в растениях импактных зон, представленных видами *Artemisia austriaca* Jack., *Poa pratensis* L., *Elytrigia repens* L. и *Phragmites australis* Cav., выше фоновых значений в 3 - 12 раз. По способности к накоплению можно выстроить следующий убывающий ряд: полынь > пырей > мятлик > тростник. Аккумуляция поллютантов в растениях проходит по базипетальному типу. В импактных зонах суммарное содержание ПАУ в корнях варьирует от 203,2 нг/г до 462,2 нг/г, в стеблях от 136,9 нг/г до 321,3 нг/г. Наиболее устойчивым к загрязнению почв видом является *Phragmites australis* Cav. Для всех растений характерен убывающий ряд накопления: 4-кольчатые > 3-кольчатые > 2-кольчатые > 5-кольчатые > 6-кольчатые.

3. Защитные механизмы растений по отношению к поллютантам усиливаются с увеличением липофильности, о чем свидетельствуют уменьшение значений величин КН и АК, а также результаты многомерного линейного регрессионного анализа. В корневой части растений содержание ПАУ увеличивается на 0,7% при увеличении содержания ПАУ в почве на 1%, и уменьшается на 1,5% с увеличением коэффициента липофильности молекулы ПАУ на 1 единицу.

4. Микробные сообщества плодородных черноземных почв являются естественным резервуаром генетического разнообразия и поддерживают генно-оперонные системы деградации ПАУ, которые сохраняются в метагеноме как «генетический резерв», что характерно в равной степени для техногенно-нарушенных и незагрязненных почв. В микробных сообществах черноземных почв обнаружен обширный пул генов катаболизма ПАУ, принадлежащих родам *Azoarcus*, *Gordonia*, *Chromobacterium*, *Rhodococcus* и *Variovorax*. Нормализованное количество этих генов сопоставимо в загрязненных и фоновых образцах, что позволяет сообществу быстро адаптироваться к загрязнителям.

5. Пути деградации ПАУ включают такие ферментные системы, как моно- и диоксигеназы, дегидрогеназы и диоксигеназы раскрытия колец, которые являются универсальными для низко и высокомолекулярных ПАУ. Выявлена специфичность деградации ПАУ изученными техногенно-нарушенными почвами с использованием гена, кодирующего антрон монооксигеназу, принадлежащую бактериям рода *Streptomyces*, которая входит в состав оперона катаболизма антрацена. Полученные данные расширяют представления о таксономическом распространении антронного пути деградации антрацена, как посредством метаболизма грибами, так и актинобактериями, одними из доминирующих представителей почвенной микробиоты.

6. Совместное внесение бактерий-деструкторов (*Rhodococcus erythropolis* и *Pseudomonas putida*) и биочара (5%) обеспечивает снижение суммарного содержания ПАУ в 5,8 раза, БаП - в 6,0 раз. Максимальная скорость снижения содержания БаП установлена для варианта «хемозем + бактерии + биочар» и составляет 139 дней, минимальная скорость снижения содержания БаП установлена для варианта «хемозем без ремедиации» и составляет 2567 дней. Вариант «хемозем + бактерии» и «хемозем + биочар» также показали ускорение сроков деградации БаП до 172 и 187 дней, соответственно. Совместное применение биочара с бактериями сокращает период полураспада БаП в 19 раз.

7. Комплексная ремедиация ПАУ-загрязненных техногенно-нарушенных почв с использованием биочаров и консорциума микроорганизмов-деструкторов полиаренов, способствует снижению количества микромицетов и повышению актиномицетов до уровня контрольных значений, наблюдается восстанавливание морфометрических и

физиологических параметров *Hordeum sativum* до значений, характерных для растений, произрастающих на незагрязненной почве.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных изданиях, входящих в Перечень ВАК

1. Состав и источники происхождения полициклических ароматических углеводов в почвах бывшего хранилища жидких промышленных стоков / Барбашев А. И., Дудникова Т. С., Сушкова С. Н., Минкина Т. М., Попов В. Р. // Живые и биокосные системы. – 2026. – No 55. – DOI 10.18522/2308-9709-2026-55-15. – URL: <https://jbks.ru/archive/issue-55/article-15> (дата обращения 25.06.2026). К3

Статьи в научных изданиях, входящих в Scopus, Web of Science, RSCI

2. Influence of carbon-containing and mineral sorbents on the toxicity of soil contaminated with benzo[a]pyrene during phytotesting / S. Sushkova, T. Minkina, T. Dudnikova [et al.] // Environmental Geochemistry and Health. – 2022. – Vol. 44, No. 1. – P. 179-193. – DOI 10.1007/s10653-021-00899-x. K1

3. Main factors in polycyclic aromatic hydrocarbons accumulations in the long-term technogenic contaminated soil / T. Dudnikova, S. Sushkova, T. Minkina [et al.] // Eurasian Journal of Soil Science. – 2023. – Vol. 12, No. 3. – P. 282-289. – DOI 10.18393/ejss.1291033. K1

4. A 10-Year Ecological Monitoring of Soils and Triticum aestivum in the Impact Zone of a Power Station / V. Chaplygin, T. Dudnikova, S. Mandzhieva [et al.] // Agriculture. – 2023. – Vol. 13, No. 3. – P. 722. – DOI 10.3390/agriculture13030722. K1

5. The effect of combined pollution by PAHs and heavy metals on the topsoil microbial communities of Spolic Technosols of the lake Atamanskoe, Southern Russia / A. V. Gorovtsov, K. Demin, S. N. Sushkova [et al.] // Environmental Geochemistry and Health. – 2022. – Vol. 44, No. 4. – P. 1299-1315. – DOI 10.1007/s10653-021-01059-x. K1

Статьи в журналах, индексируемых в РИНЦ

6. Monitoring the content of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils and natural herbal vegetation of technogeneously polluted territory / A. Barbashev, S. Sushkova, T. Dudnikova [et al.] // Russian Journal of Earth Sciences. – 2023. – Vol. 23, No. 5. – P. ES0209. – DOI 10.2205/2023ES02SI09. K1

СОКРАЩЕНИЯ И ОБОЗНАЧЕНИЯ

АК - акропетальный коэффициент

БаП - бенз(а)пирен

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

КН - коэффициент накопления

КОЕ - колониеобразующие единицы

НчГРЭС - Новочеркасская ГРЭС

ООПТ - особо охраняемая природная территория

ПАУ - полициклические ароматические углеводороды

ПДК - предельно допустимая концентрация

ФС II - фотосистема II