

Казахский Национальный Университет им. аль-Фараби

УДК 60:574.36:632.95

На правах рукописи

**МАМИРОВА АЙГЕРИМ АМАНЖОЛОВНА**

**Восстановление загрязненных хлорорганическими пестицидами почв с помощью биотопливных растений второго поколения с последующим каскадным использованием биомассы**

6D070100 – Биотехнология

Диссертация на соискание степени  
доктора философии (PhD)

Научный консультант:  
Нуржанова А.А.,  
д.б.н., профессор

Зарубежный научный консультант:  
Pidlisnyuk Valentina,  
Doctor of Chemical Science,  
Professor at Jan Evangelista  
Purkyně University (Usti nad  
Labem, Czech Republic)

Республика Казахстан  
Алматы, 2022

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ</b>	4
<b>ОПРЕДЕЛЕНИЯ</b>	5
<b>ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ</b>	6
<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	8
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	14
1.1 Экологическое состояние почв Республики Казахстан в отношении загрязнения хлорорганическими пестицидами (ХОП) и токсическими микроэлементами (ТМЭ)	14
1.1.1 История возникновения и картирование загрязнения почв и потенциальное воздействие на здоровье человека	14
1.1.2 Характеристики ХОП и влияние на окружающую среду	15
1.1.3 Характеристики ТМЭ и влияние на окружающую среду	22
1.2 Применение энергетических растений второго поколения в фиторемедиации почв, загрязненных органическими и неорганическими поллютантами	24
1.2.1 Физиологические параметры и урожайность биомассы энергетических растений	25
1.2.2 Фиторемедиационный потенциал энергетических растений	28
1.3 Влияние органических и неорганических почвенных добавок на процесс фиторемедиации и урожайность биомассы	30
1.3.1 Низкомолекулярные соединения	30
1.3.2 Поверхностно-активные вещества	31
1.3.3 Углеродсодержащие материалы	32
1.3.4 Наночастицы	33
1.3.5 Ассоциации растений и микроорганизмов (АРМ)	34
1.4 Перспективность каскадной утилизации биомассы в контексте энергетической промышленности	36
1.4.1 Технология производства биочара из биомассы Мискантуса	37
1.4.2 Влияние биочара из Мискантуса на урожайность биомассы	39
1.4.3 Сравнительный анализ биочара из Мискантуса с биочарами, произведенными из другого сырья	41
1.5 Резюме литературного обзора	42
<b>2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	44
2.1 Объекты исследования	44
2.1.1 Почвы, использованные для исследования	44
2.1.2 <i>Miscanthus sinensis</i> And.	46
2.1.3 <i>Miscanthus</i> × <i>giganteus</i> Greef et Deu	46
2.1.4 Органические и неорганические почвенные добавки	46
2.2 Методы исследования	47

2.2.1	Дизайн эксперимента по изучению фиторемедиационного потенциала <i>M. sinensis</i> при загрязнении почвы ХОП	47
2.2.2	Дизайн эксперимента по изучению фиторемедиационного потенциала <i>M. × giganteus</i> при загрязнении почвы ТМЭ	49
2.2.3	Определение содержание хлорофилла	50
2.2.4	Химический анализ	50
2.2.5	Расчет коэффициентов фиторемедиации	51
2.2.6	Пиролиз. Производство биочара из биомассы Мискантуса	52
2.2.7	Статистический анализ	54
<b>3</b>	<b>РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ</b>	<b>55</b>
3.1	Мониторинг загрязнения почв	55
3.1.1	Почва, загрязненная ХОП	55
3.1.2	Почва, загрязненная ТМЭ	56
3.2	Морфологические и физиологические параметры целевых энергетических растений второго поколения, использованных в процессе фиторемедиации	57
3.2.1	Морфофизиологические параметры энергетических растений, произраставших на исторически загрязненных ХОП и ТМЭ почвах	57
3.2.2	Содержание хлорофилла в листьях <i>M. sinensis</i> , произраставшего на исторически загрязненной ХОП почве	59
3.3	Фиторемедиационный потенциал энергетических растений, произраставших на исторически загрязненных ХОП и ТМЭ почвах	60
3.3.1	Фиторемедиационный потенциал <i>M. sinensis</i> , произраставшего на исторически загрязненной ХОП почве	60
3.3.2	Фиторемедиационный потенциал <i>M. × giganteus</i> , произраставшего на исторически загрязненной ТМЭ почве	64
3.4	Оптимизация процесса фиторемедиации загрязненных почв с помощью почвенных добавок	65
3.4.1	Влияние почвенных добавок на фиторемедиационный потенциал и урожайность биомассы <i>M. sinensis</i> , произраставшего на исторически загрязненной ХОП почве	65
3.4.2	Влияние изолированной бактерии на фиторемедиационный потенциал и урожайность биомассы <i>M. × giganteus</i> , произраставшего на исторически загрязненной ТМЭ почве	74
3.5	Каскадная утилизация биомассы <i>M. × giganteus</i> с помощью пиролиза с последующим производством биочара	83
	<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b>	<b>89</b>
	<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ</b>	<b>92</b>
	<b>ПРИЛОЖЕНИЯ</b>	<b>108</b>

## **НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ**

**Настоящая диссертация написана в соответствии со следующими стандартами:**

ГОСТ 7.32-2001 – Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

ГОСТ 7.1-2003 – Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления.

## ОПРЕДЕЛЕНИЯ

**В настоящей диссертации применяются следующие термины с соответствующими определениями:**

1. **Ксенобиотик** - это вещество синтетического происхождения, являющееся чужеродным для живых организмов и экосистемы.
2. **ЛД<sub>50</sub>** (летальная доза) – это концентрация вещества или соединения, вызывающая гибель 50% от испытываемой популяции.
3. **Период полураспада** - это период времени, необходимый для устранения половины химического вещества из организма или окружающей среды.
4. **Допустимая суточная доза (ДСД)** или допустимое суточное потребление – это количество химического вещества, которое считается безопасным для людей на основе долгосрочного потребления.

## ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

$\alpha$ -ГХЦГ	- $\alpha$ -гексахлорциклогексан
$\beta$ -ГХЦГ	- $\beta$ -гексахлорциклогексан
$\gamma$ -ГХЦГ	- $\gamma$ -гексахлорциклогексан, линдан
АРМ	- ассоциации растений и микроорганизмов
АУ	- активированный уголь
БМ	- биочар из Мискантуса
ВОЗ	- Всемирная Организация Здоровья
ГТК	- гидротермальная карбонизация
ГХБ	- гексахлорбензол
ДДД	- дихлордифенилдихлорэтан
ДДТ	- дихлордифенилтрихлорэтан
ДДЭ	- дихлордифенилдихлорэтилен
ДСД	- допустимая суточная доза
ИУК	- индолуксусная кислота
ЛД <sub>50</sub>	- летальная доза
НЗБ	- надземная биомасса
ПАВ	- поверхностно-активное вещество
ПДК	- предельно-допустимая концентрация
ПХБ	- полихлорированные бифенилы
СОЗ	- стойкий органический загрязнитель
ТМЭ	- токсические микроэлементы
ХОП	- хлорорганический пестицид
BCF	- bioconcentration factor - коэффициент биоконцентрации
DM	- dry matter - сухой вес
EPS	- extracellular polymeric substance - внеклеточное полимерное вещество
НВВ	- hexabromobiphenyl - гексабромдифенил
НВСД	- hexabromocyclododecane - гексабромциклододекан
HCN	- hydrogen cyanide - цианистый водород
LOD	- limit of detection – предел обнаружения
$\log K_{ow}$	- octanol-water partition coefficient - коэффициент распределения октанол-вода
$M_r$	- молекулярная масса
nZVI	- nanosized zero-valent iron - наноразмерное нульвалентное железо
ОМ	- organic matter – органическое вещество
ПАН	- polyaromatic hydrocarbons - полиароматические углеводороды
PBDE	- polybrominated diphenyl ethers - полибромированные дифениловые эфиры
PCDD	- polychlorinated dibenzodioxin - полихлорированные дибензодиоксины
PCDF	- polychlorinated dibenzofuran - полихлорированные дбензофураны

PFOS	- perfluorooctane sulfonic acid - перфтороктановая сульфоновая кислота
PFAS	- perfluorinated-alkylated substance - перфторалкилированное вещество
PGPB	- plant growth-promoting bacteria - бактерии, стимулирующие рост растений
POSF	- perfluorooctane sulfonyl fluoride - перфтороктановый сульфонилфторид
SBET	- specific (Brunauer, Emmett and Teller) surface area – площадь поверхности
SDS	- sodium dodecyl sulfate - додецилсульфат натрия
TI	- tolerance index – индекс толерантности
TLF	- translocation factor – коэффициент транслокации
UI	- uptake index – индекс поглощения
UV	- ultraviolet - ультрафиолет
VM	- volatile matter – летучие вещества

## ВВЕДЕНИЕ

**Общая характеристика работы.** Диссертационная работа посвящена изучению фиторемедиационного потенциала перспективных энергетических растений в отношении загрязнения почв органического и неорганического характера и разработке методов повышения эффективности фиторемедиации и увеличения производства биомассы для последующего преобразования в биопродукты.

### **Актуальность темы исследования.**

Мониторинг окружающей среды регулярно выявляет места, загрязненные различными ксенобиотиками, которые ограничивают использование этих мест. Таким образом, поиск экономически рентабельных и экологически чистых методов очистки матриц окружающей среды является важным направлением, которое заслуживает быть исследованным. Однако лишь лимитированное количество исследований посвящено смешанному загрязнению экосистем, тогда как в естественных условиях это наиболее распространенная экологическая проблема. Подобные смешанные загрязнения окружающей среды являются острой экологической проблемой Республики Казахстан. Участки с подобным загрязнением есть в разных регионах из-за развития различных сфер экономики: нефтегазовой отрасли, металлургии, добычи урана или функционирования космодрома Байконур. Несмотря на огромный вклад этих видов деятельности в национальную экономику, их выбросы создают различные очаги проблемных смешанных загрязнений почв, требующих стратегий управления, чтобы противостоять такой ситуации и защитить местное население. Более того, интенсивная практика сельского хозяйства и бывшие склады устаревших пестицидов, датируемые 1960-ми годами, очень серьезно угрожают окружающей среде Казахстана [1,2], Украины [3] и Молдавии [4].

Одним из необходимых шагов по предотвращению токсического воздействия загрязнителей на окружающую среду и здоровье человека является восстановление загрязненных почв. В настоящее время широко используются два направления рекультивации почв: извлечение ксенобиотиков и физико-химическая обработка. Эти технологии чрезвычайно энергоемки и требуют больших капиталовложений. Поэтому фиторемедиация как альтернатива физическим или химическим методам восстановления почв является весьма перспективной технологией, гармонично взаимодействующей с экосистемой. Эта технология основана на использовании растений для рекультивации почв, загрязненных токсичными микроэлементами (ТМЭ), углеводородами, пестицидами, нефтепродуктами, а также радионуклидами. Однако фиторемедиация имеет некоторые ограничения, такие как длительный период восстановления, необходимость утилизации загрязненной биомассы, а также медленное разложение органических ксенобиотиков в почве.

В настоящее время применение биоэнергетических растений в процессе фиторемедиации набирает популярность в соответствии со стратегией биоэкономики, направленной на поиск альтернативного сырья для преобразования в энергетические продукты для достижения устойчивого роста.

Эти растения должны обладать способностью быстрого роста и производства достаточного количества биомассы для удаления значительного количества загрязняющих веществ из почвы. Несомненно, характер восстановления будет напрямую зависеть от способности растения поглощать и накапливать соответствующий загрязнитель. В долгосрочной перспективе важным свойством биоэнергетических растений, которое необходимо учитывать, является высокое содержание лигнина, целлюлозы и лигноцеллюлозы, которые определяют качество производимой биомассы и влияют на ее применение.

**Цель исследования.** Целью исследования является выявление физиологические особенностей воздействия хлорорганических пестицидов (ХОП) и ТМЭ на энергетические виды растений для оптимизации технологии фиторемедиации и разработка методов преобразования биомассы, образующейся во время фиторемедиации, в биопродукт.

**Задачи исследования:**

1. Определить энергетические растения второго поколения, подходящие для применения в фиторемедиации почв, загрязненных ХОП или ТМЭ, производящие высокий урожай биомассы и способные накапливать и/или разлагать ХОП или ТМЭ.

2. Изучить толерантность энергетических культур к высоким концентрациям ХОП или ТМЭ в почве.

3. Оптимизировать рост, производство биомассы и фиторемедиационный потенциал энергетических культур путем внесения органических и неорганических добавок в почвы, загрязненные ХОП или ТМЭ.

4. Разработать способ утилизации загрязненной биомассы энергетических культур, полученной в результате процесса фиторемедиации.

**Объекты исследования:** Почвы: а) исторически загрязненная ХОП; б) искусственно загрязненная ТМЭ. Энергетические растения второго поколения: а) *Miscanthus sinensis* And.; б) *Miscanthus* × *giganteus* Greef et Deu.

**Методы исследования:** Физиологические (визуальный осмотр растений на предмет наличия индикаторов стресса; измерение продуктивности биомассы), химические (агрохимический профиль загрязненной почвы; атомно-абсорбционная спектрометрия с электротермической атомизацией; газовая хроматография с детектором захвата электронов), биотехнологические (микрклональное размножение), программа для анализа и редактирования изображений Adobe Illustrator и программное обеспечение для статистического анализа R. Экспериментальные данные имели достаточное количество повторов и были статистически достоверными.

**Научная новизна исследования.** В ходе исследования были впервые обнаружены: а) способность *Miscanthus sinensis* переносить высокие концентрации многочисленных ХОП, включая 15 СОЗ-пестицидов, в почвах; б) потенциал производства биочара из загрязненных корневищ *Miscanthus* × *giganteus* для достижения «zero-waste» технологии в фиторемедиации.

**Теоретическая и практическая значимость исследования.** В диссертации рассмотрены фундаментальные аспекты морфологических и физиологических параметров устойчивости энергетических культур второго

поколения к хлорорганическим пестицидам и токсическим микроэлементам для решения теоретических концепций моделей адаптации растений к воздействию ксенобиотиков.

Таким образом, диссертация имеет теоретическое и практическое значение.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Почва вокруг бывшего склада устаревших пестицидов загрязнена 24 наименованиями ХОП, включая 15 СОЗ пестицидов (альдрин, хлордан, 2.4-ДДД, 4.4-ДДД, 4.4-ДДЭ, 4.4-ДДТ, дикофол, дильдрин, эндрин, эндосульфат  $\alpha$  и  $\beta$ , ГХБ,  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -ГХЦГ и гептахлор) в концентрациях, превышающих ПДК до 1000 раз, которые представляют угрозу для окружающей среды и здоровья человека.

2. *M. sinensis* толерантен к сильному загрязнению почвы (145 мг кг<sup>-1</sup>) многочисленными ХОП, в отличие от *M. × giganteus*. Индекс толерантности растения, равный 0.99, подтверждает вышеуказанное утверждение. Высота растений и сухая масса надземной биомассы уменьшились на 5% и 23%, в то время как длина и сухая масса корней увеличились на 16% и 11%, соответственно. Было обнаружено, что ХОП влияют на содержание пигментов хлорофилла: *Chl<sub>a</sub>* снизился на 30%, *Chl<sub>b</sub>* – на 37%, а каротиноиды – на 29%.

3. *M. sinensis* может поглощать ХОП из загрязненной почвы и гипераккумулировать дикофол, хлордан, дильдрин, эндосульфат сульфат,  $\beta$ -ГХЦГ и ГХБ с BCF 66.8, 35.9, 21.1, 21.7, 6.6 и 28.7. Энергетическая культура обладает потенциалом для биоконцентрации 4.4-ДДЭ, 4.4-ДДТ, метоксихлор,  $\gamma$ -ГХЦГ, альдрин, гептахлор, эндосульфат  $\beta$ , эндрин альдегид и гексабромбензен с коэффициентами биоконцентрации, превышающими 1 и равными 2.1, 1.5, 3.9, 1.1, 1.6, 2.7, 2.6, 1.2 и 2.1, соответственно, для фитостабилизации 4.4-ДДЭ, дикофола и хлордана с коэффициентами транслокации равными 0.49, 0.07 и 0.47, и для фитоэкстракции  $\beta$ -ГХЦГ,  $\gamma$ -ГХЦГ и гептахлора с TLF выше 1 и равными 4.04, 84 и 2.01, соответственно. 4-ДДТ, метоксихлор, альдрин, дильдрин, эндосульфат  $\beta$ , эндосульфат сульфат и эндрин альдегид равномерно распределены внутри растения (TLF = 1.0). Корреляционный анализ подтвердил, что поглощение ХОП из почвы зависит от их гидрофобности: чем выше гидрофобность, тем ниже накопление в тканях растений. Было обнаружено, что *M. sinensis*, растущий на загрязненной почве, собранной вблизи бывшего склада пестицидов, развил механизм физиологической устойчивости во время адаптации к ХОП, то есть накопление и перемещение ХОП в системе “почва – корень – надземная биомасса” с использованием механизмов фитостабилизации и фитоэкстракции. *M. sinensis* может быть использован для восстановления почв, загрязненных ХОП.

4. Оптимизация условий выращивания *M. sinensis* в почве, загрязненной ХОП, показала, что внесение Tween 20 увеличивает высоту растений и длину корней на 16.6% и 20.8%, соответственно; увеличивает накопление и обеспечивает фитостабилизирующий эффект в отношении альдрина, хлордана, дильдрина, эндосульфана  $\beta$ , эндосульфат сульфата, эндрин альдегида, гептахлора, гексабромбензена, метоксихлора, 4.4-ДДТ, и 4.4-ДДЭ, увеличивая их поглощение и снижая их транслокацию в НЗБ в 2.2 и 10.4, 1.4 и 6.0, 2.2 и 11.3, 1.8 и 6.1, 2.5 и 8.2, 2.3 и 10.1, 1.3 и 8.5, 1.3 и 16.0, 1.2 и 13.6, 2.1 и 17.5, 1.6 и 3.9

раза, соответственно; снижает поглощение ГХБ,  $\beta$ -ГХЦГ и  $\gamma$ -ГХЦГ в 2.7, 1.3 и 23.1 раза, соответственно; обеспечивает фитоэкстракцию дикофола, увеличивая миграцию в 2.2 раза: применение Tween 20 повышает эффективность поглощения и фитостабилизации ХОП. Внесение АУ в почву, загрязненную ХОП, показало, что снижается поглощение альдрина, хлордана, дильдрина, эндосульфана  $\beta$ , эндосульфана сульфата, эндрин альдегида, ГХБ, гептахлора, гексабромбензена, метоксихлора,  $\beta$ -ГХЦГ,  $\gamma$ -ГХЦГ, и 4.4-ДДТ в 1.6, 3.0, 1.6, 1.1, 1.4, 1.5, 3.0, 1.4, 2.0, 1.5, 2.4, 23.1 и 1.4 раза, соответственно; усиливается фитостабилизация всех ХОП, кроме хлордана (транслокация в НЗБ увеличилась в 18 раз), в диапазоне 1.9 до 115 раз.

**5.** *M. × giganteus* толерантен (ТІ до 2.0) высокие концентрации V (в 11.7 раза выше ПДК), Sr (59.8×ПДК), Cr (2.7×ПДК), Ni (2.1×ПДК) и особенно Pb (4.6×ПДК и 33.9×ПДК), которые были наиболее биодоступными из-за искусственного загрязнения почвы, следовательно, отсутствия процесса старения почвы. Энергетическая культура, способная поглощать ТМЭ из загрязненной почвы: в условиях множественного загрязнения ТМЭ *M. × giganteus* может биоконцентрировать и фитоэкстрагировать Mn с ВСФ для НЗБ и корней 1.2-1.6 и 0.5-0.7, соответственно; с увеличением концентрации Pb в почве накопление Mn в НЗБ и корнях уменьшилось на 25.6% и 31.8%, соответственно. В отношении четырех оставшихся ТМЭ, а именно Cu, Zn, Sr и Pb, *M. × giganteus* не обладает потенциалом для их биоконцентрации (ВСФ меньше 1, даже 0.1, за исключением Zn) в условиях множественного загрязнения ТМЭ. Более того, *M. × giganteus* не может поглощать и накапливать V, Cr и Ni при множественном загрязнении почвы ТМЭ.

**6.** Оптимизация условий выращивания *M. × giganteus* в почве, загрязненной ТМЭ, показала, что инокуляция корневищ RGPB *B. altitudinis* КР-14 улучшает физиологические параметры, такие как высота и сухая масса листьев, стеблей и корней на 28.2%, 49.1%, 85.9% и 76.,0%, соответственно; обеспечивает фитостабилизирующий эффект в отношении Cu, Sr и Pb, увеличивая их поглощение на 30.6%, 30.3% и 39.7%, соответственно.

**7.** Загрязненная биомасса *M. × giganteus* может быть использована для производства биочара с целью достижения “zero-waste” технологии в фиторемедиации. Средний выход биочара, полученного либо из соломы Мискантуса (НЗБ), либо из корневищ, составляет 31.2%. Биочар обладает хорошими термохимическими и физико-химическими свойствами, которые можно применять в процессе улучшения качества почвы и фиторемедиации: загрязненная биомасса может быть преобразована в биочар для содействия фиторемедиации.

**Уровни организация исследований.** Исследования, описанные в этой диссертации, проводились на уровне тканей, органов, организмов и экосистем.

**Связь с планом основных научных работ.** Диссертационные исследования по изучению различных энергетических растений на предмет возможности восстановления почв, загрязненных ксенобиотиками органического и неорганического происхождения, были поддержаны программой BR05236379 «Комплексная оценка воздействия неупотребленных

и запрещенных к использованию пестицидов на генетический статус и здоровье населения Алматинской области», предоставленным Комитетом по науке Министерства образования и науки Республики Казахстан, частично выполнено в Институте генетики и физиологии МОН РК. Часть исследовательской работы, направленная на изучение конвертации загрязненной биомассы в биопродукт, была поддержана немецко-чешским проектом CORNET «MiscanValue» и проводилась на факультете окружающей среды Университета Яна Евангелиста Пуркине в Усти-над-Лабем, Чешская Республика.

**Личный вклад автора.** Все основные результаты, описанные здесь, выполнены и собраны автором. Кроме того, основные результаты исследований, анализы, таблицы, данные и рисунки созданы автором, а все новые наблюдения и выводы сделаны на основе результатов, полученных от работы и исследования Ph.D докторанта.

**Апробации исследования.** Основные результаты и наблюдения представлены и подтверждены публикациями в престижных международных научных журналах, включенных в базу данных Scopus, Web of Science, журналах, рекомендованных ККСОН, а также в трех главах книги «Phytotechnology with Biomass Production: Sustainable Management of Contaminated Sites», опубликованное издательством Taylor & Francis. Результаты обсуждались на научных семинарах института, докладывались на международных и республиканских научных конференциях:

- на Международной научной конференции студентов и молодых ученых «Фараби Әлемі» (2019, Алматы, Казахстан);

- на Международной научной конференции студентов и молодых ученых «Фараби Әлемі» (2020 г., Алматы, Казахстан).

**Публикации.** Большая часть содержания диссертации была опубликована в 20 научных работах, в том числе в 7 научных статьях с импакт-факторами (IF = 6.789; IF = 4.32; IF = 4.223 (2); IF = 3.417; IF = 1.99) в соответствии с Базой данных SCOPUS. 5 статей в научных журналах, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки Министерства образования и науки Республики Казахстан (ККСОН МОН РК), 3 тезиса в материалах международных конференций, 3 главы в книге «Phytotechnology with Biomass Production: Sustainable Management of Contaminated Sites», опубликованной в издательстве Taylor & Francis, 1 глава в книге «Key Questions on Climate Change and Sustainability. Toward the Make-or-Break Years», опубликованной издательством Printeko, 1 брошюра и 1 кадастр.

**Структура диссертации.** Диссертация написана на 110 страницах, содержит обозначения и сокращения, введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждения, выводы, ссылки из 237 источников, содержит 14 таблиц и 21 рисунок.

## 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Экологическое состояние почв Республики Казахстана в отношении загрязнения хлорорганическими пестицидами (ХОП) и токсическими микроэлементами (ТМЭ)

1.1.1 История возникновения и картирование загрязнения почв и потенциальное воздействие на здоровье человека

Казахстан является страной, не имеющей выхода к морю, в Центральной Азии, которая занимает девятое место по площади в мире (2724 км<sup>2</sup>) и занимает третье место среди промышленных держав Содружества Независимых Государств. Экономика Казахстана основана на горнодобывающей, тяжелой и нефтяной промышленности из-за наличия важных минеральных ресурсов и обширных запасов нефти. На территории Казахстана насчитывается более 5000 месторождений полезных ископаемых и металлургических заводов, таких как Казахмыс, Нова Цинк, Актюбинская медная корпорация и Южполиметалл [5,6], а 62% территории занимают нефтегазовые районы со 172 нефтяными месторождениями, 46.5% из которых все еще находятся в стадии разработки [7].

В дополнение к экологическим последствиям промышленной деятельности, на территории Казахстана существуют также исторические очаги загрязнения, унаследованные от СССР. С 1950-х гг. началось активное применение пестицидов (около 100 наименований) в сельском хозяйстве, и всего через 30 лет были выявлены случаи гибели рыб и птиц, которые были связаны с присутствием ХОП в водоемах. Например, в 1985 г. на реке Сырдарья была выявлена массовая гибель вышеупомянутых животных, связанная с накоплением ДДТ и ДДЭ в их организме [8]. Первый мониторинг уровней загрязнения почвы был проведен в 1994 г. и выявил обнаружение ХОП в 10% из 12 тысяч образцов почвы, взятых для анализа. А уже в 1993 г. этот показатель достиг 20% [8].

В связи с опасностью, которую представляют стойкие органические загрязнители (СОЗ), в 2001 г. была принята Стокгольмская конвенция, которая вступила в силу в 2004 г. Стороны Конвенции обязались сократить количество СОЗ, которые наносят вред людям и могут распространяться на большие расстояния. 23 мая 2001 г. Республика Казахстан подписала Стокгольмскую конвенцию и 7 июня 2007 г. ратифицировала ее, взяв на себя обязательство не производить, не использовать, а также уничтожать запасы химических веществ, признанных особо опасными для жизни. В рамках Конвенции список СОЗ включал 12 химических веществ, в том числе 9 пестицидов, а именно ДДТ, альдрин, дильдрин, эндрин, хлордан, гептахлор, мирекс, токсафен и ГХБ. Однако этот список постоянно обновляется: в 2009 г. 5 пестицидов, такие как хлордекон, α-ГХЦГ, β-ГХЦГ, γ-ГХЦГ и пентахлорбензол, и 4 промышленных химиката (октабромдифениловый эфир, пентабромдифениловый эфир, PFOS и POSF) были классифицированы как СОЗ; а в 2015 г. список дополнили бромированные антипирены (PBDE, HBCD, и HBB) и первый PFAS [9]. Таким образом, в 2013 г. 13 ХОП были определены как СОЗ.

Вышеупомянутая антропогенная деятельность, связанная с поллютантами различного происхождения приводит к текущему стойкому историческому загрязнению, представленному рисунке 1: за 2008 г. было зарегистрировано 10 000 тонн запрещенных пестицидов, непригодных для использования, и их смесей неизвестного состава [10]; за 2012 г. было зарегистрировано 602 заброшенных склада пестицидов [11]; и на 2020 г. очаги загрязнения ТМЭ были вновь обнаружены вокруг металлургических заводов [1, р. 43324].

В соответствие с рисунком 1, существует достаточное количество очагов загрязнения почв ксенобиотиками неорганического, органического или комплексного происхождения. Высокие уровни загрязнения могут вызывать заболевания человека, связанные с потреблением контаминированной пищи или случайным попаданием почвы или воды в организм, например, в сельском хозяйстве, садоводстве и т.д. [12–15]. Кроме того, воздействие на человека происходит в основном через пищу животного происхождения из-за выпаса на открытом воздухе, в результате непрерывного перорального проглатывания почвы, что было доказано для домашнего скота [16–18]. В стране, где 18% населения занято сельским хозяйством, а 80% сельскохозяйственных угодий относятся к категории пастбищ, загрязнение кормов для животных является проблемой, которую необходимо решить [19,20]. Влияние загрязнения почвы на животноводство в Казахстане было продемонстрировано на примере верблюдов: загрязнение Pb и Cd ослабило процесс [21]. Казахстан является одной из стран в мире с наиболее передовым внедрением природоохранного сельского хозяйства: нулевая обработка почвы, почвенный покров и севооборот позволяют производителям пшеницы остановить деградацию почв и повысить качество продуктов питания за счет сокращения переноса металлов обратно в окружающую среду. В целом население Казахстана традиционно питается преимущественно мясом: говядиной, бараниной, курицей, а также верблюдом и кониной.

В рамках устойчивого развития питания в Казахстане крайне важно сократить выбросы загрязняющих веществ в окружающую среду, разработать экологически чистые технологии для их извлечения из различных экологических матриц (почвы, отложений, поверхностных вод) и повысить уровень образования граждан по снижению воздействия загрязняющих веществ.

### 1.1.2 Характеристики ХОП и влияние на окружающую среду

ХОП делятся на следующие основные группы в зависимости от химической структуры: а) ДДТ и аналоги (ДДЭ, ДДД, хлорбензилат, метоксифтор, дикофол (кельтан) и т.д.); б) гексахлорциклогексаны ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\delta$ -,  $\gamma$ -ГХЦГ); в) циклодиены и родственные соединения (альдрин, дильдрин, эндрин, гептахлор, хлордан, эндосульфат и т.д.); г) токсафен и родственные химические вещества; е) мирекс и хлордекон [22]. По состоянию на 2019 г. в Стокгольмской конвенции перечислены 16 ХОП: альдрин, хлордан, хлордекон, ДДТ и метаболиты, Дикофол (кельтан), дильдрин, эндрин, эндосульфат и его изомеры, ГХБ, изомеры ГХЦГ ( $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -), гептахлор, мирекс, пентахлорфенол и токсафен [23].

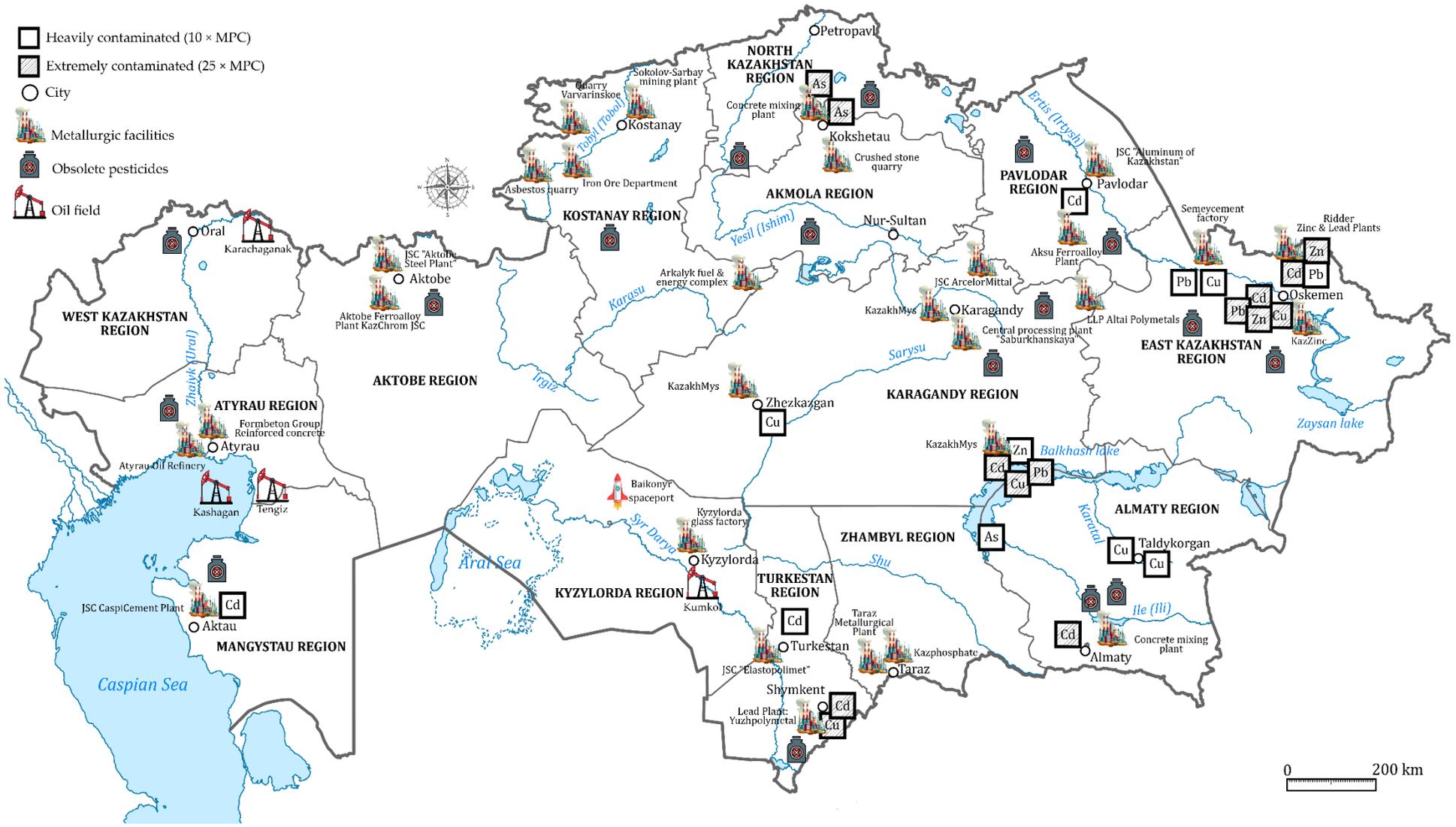


Рисунок 1 – Карта загрязнения почв Республики Казахстан [1, р. 43324,24]

Согласно Wania и Mackay [25], пестициды, классифицируемые как СОЗ, делятся на четыре группы в зависимости от давления паров переохлажденной жидкости при 25°C, коэффициента разделения октанола и воздуха и температуры конденсации. Низкомобильные СОЗ осаждаются и остаются вблизи источника загрязнения, в то время как высокомобильные СОЗ рассеиваются по всему земному шару без локального осаждения [25, p. 393,26]. Большая часть СОЗ достаточно подвижна, чтобы испаряться и осаждаться в воздухе, воде и почве при нормальных температурах окружающей среды. Теплые температуры способствуют потенциальному рассеиванию СОЗ в атмосфере из-за более высокой подвижности и скорости разложения, в отличие от умеренного климата. Кроме того, естественные реакции разложения замедляются на холоде, что приводит к тому, что СОЗ становятся более устойчивыми. Как следствие, случаи обнаружения СОЗ в тканях арктических животных и морских местообитаниях регулярно регистрируются с конца 1960-х гг. и в настоящее время происходят все чаще [27,28].

Главной особенностью ХОП является высокая липофильность, которая приводит к накоплению этих загрязняющих веществ в липидных тканях, что приводит к серьезным неблагоприятным последствиям для здоровья человека [29]. Таким образом, биомагнификация СОЗ в основном происходит в печени и жировой ткани. Первые публичные предупреждения о потенциальной опасности СОЗ были связаны с локальными экологическими последствиями в начале 1960-х гг. и усилились в 1970-х гг. [30]. Известно, что проблемы со здоровьем человека, такие как эндокринные нарушения, рак, репродуктивные расстройства, сердечно-сосудистые заболевания и проблемы с иммунной системой, вызываются или усугубляются этими соединениями из-за непрерывного воздействия и накопления [31]. Наиболее серьезные последствия возникают в основном при использовании загрязненных сельскохозяйственных продуктов, содержащих пестициды или их метаболиты [32]. Поскольку СОЗ являются биоаккумулятивными, они могут оказывать различное воздействие на здоровье человека, рыбу и дикую природу, которое увеличивается с каждым звеном пищевой цепи даже при очень низких концентрациях [31, p. 89].

В Казахстане основные ХОП, присутствующие в почве, относятся к трем группам пестицидов, таким как ДДТ и аналоги, ГХЦГ и циклодиены (Таблица 1). ГХЦГ и ГХБ являются относительно высокомобильными СОЗ, которые преимущественно осаждаются и накапливаются в полярных широтах в диапазоне температур от -10°C до -50°C. ДДТ и метаболиты, хлорбензилат, метоксифлор, дикофол и ХОП группы циклодиенов являются СОЗ с относительно низкой подвижностью и предпочитают осаждаться в средних широтах в диапазоне температур от +30°C до -10°C [25, p. 216]. Следовательно, ХОП последних двух групп являются доминирующими загрязнителями с более высокими концентрациями в почвах Казахстана, которые в некоторых случаях превышают значения предельно допустимой концентрации (ПДК) в тысячи раз.

Альдрин - это белое кристаллическое вещество, используемое для борьбы с термитами, кузнечиками и другими насекомыми, однако может стать причиной гибели птиц, рыб и людей. Значение ЛД<sub>50</sub> для взрослых людей оценивается

примерно в 5 г [23]. Люди подвергаются воздействию альдрина в основном через продукты животного происхождения, такие как молоко и мясо. Согласно исследованиям, проведенным в Индии, среднесуточное потребление альдрина и его побочного продукта дильдрина составляет около 19 мкг на человека, тогда как пероральная допустимая суточная доза (ДСД) составляет 0.03 мкг кг<sup>-1</sup> [33]. Этот ХОП имеет довольно высокий коэффициент гидрофобности 6.5 (Таблица 1) с периодом полураспада до одного года.

Таблица 1 – Свойства, уровень токсичности, представленный пероральной летальной дозой (ЛД<sub>50</sub>), и пороговые значения концентраций ХОП для почв в соответствии с законодательством Республики Казахстан и Европейского Союза

ХОП	$M_r$ , г моль <sup>-1</sup>	$\log K_{ow}$ [34]	ЛД <sub>50</sub> (крыса), г кг <sup>-1</sup>	ПДК, мкг кг <sup>-1</sup>	
				РК [35]	ЕС [36]
2.4-ДДД	320.0	5.87	4 [37]	100	10.0
4.4-ДДД	320.0	6.02		100	10.0
4.4-ДДЭ	318.0	6.51	0.8 [37]	100	10.0
4.4-ДДТ	354.5	6.91	0.15 [37]	100	10.0
$\alpha$ -ГХЦГ	296.9	3.80	4	100	220.0
$\beta$ -ГХЦГ	290.8	3.78	2	100	92.0
$\gamma$ -ГХЦГ	290.8	3.72	0.1	100	0.01
$\delta$ -ГХЦГ	290.8	4.14		100	-
Альдрин	364.9	6.50	0.07 [38]	2.5	7.0
Гексабромбензен	551.5	6.07		30	28
Гептахлор	373.3	6.10	0.2 [39]	50	0.7
Гептахлор эпоксид	389.3	5.40	-	50	0.052
ГХБ	248.8	5.73	3.5 [40]	500	50.0
Дибутил хлорэндат	501.0	-	10	-	-
Дикофол (Кельтан)	370.5	5.02	0.8 [41]	100	-
Дильдрин	380.9	5.40	0.09 [38]	0.5	7.0
Метоксихлор	345.6	5.08	5-7 [42]	1600	900.0
Хлорбензилат	325.2	4.74	0.7 [43]	20	-
Хлордан	409.8	6.16	0.6 [44]	100	4.3
Эндосульфан $\alpha$	406.9	3.83	0.4 [45]	100	0.003
Эндосульфан $\beta$	406.9	3.62		100	0.003
Эндосульфан сульфат	422.9	3.66	-	-	-
Эндрин	380.9	5.40	0.4 [46]	1	2.9
Эндрин альдегид	380.9	4.80	-	-	2.9

Примечание:  $M_r$  – молекулярная масса.

Гептахлор - это ХОП, который может быстро абсорбироваться живыми организмами при приеме внутрь и контакте с кожей и накапливаться в жировой ткани, где химическое вещество превращается в его более стойкий метаболит, гептахлор эпоксид. Пестицид абсолютно стабилен при прямом воздействии UV излучения, влаги и температур до 160°C. Его период полураспада в почве

колеблется от 9 месяцев до 2 лет, но его можно обнаружить в течение 16 лет после применения. Пероральный ДСД гептахлора составляет  $0.5 \text{ мкг кг}^{-1}$  [39], в то время как ДСД гептахлор эпоксида –  $0.013 \text{ мкг кг}^{-1}$  [33].

ГХБ представляет собой хлорированный ароматический углеводород, нерастворимый в воде и хорошо растворимый в жирах. Утвержденный ДСД для предотвращения неопластического эффекта составляет  $0.16 \text{ мкг кг}^{-1}$  [40], тогда как значение ДСД, предотвращающее канцерогенное воздействие, составляет  $0.8 \text{ мкг кг}^{-1}$  [33]. Период полураспада в почве колеблется от 3-6 лет в аэробных и до 11-23 лет в анаэробных условиях [40].

Дикофол (кельтан) представляет собой ХОП, состоящий из двух изомеров *p,p'*- (80-85%) и *o,p'*-дикофола (15-20%). Пестицид представлен коричневатым маслом. ДСД составляет  $30 \text{ мкг кг}^{-1}$  [41]. Согласно Стокгольмской конвенции, дикофол был классифицирован как "умеренно опасный" СОЗ, но он высокотоксичен для водной флоры и фауны. Его средний период полураспада в почве составляет 60 дней, но под воздействием солнечного света происходит процесс фотодеградациии, который сокращает период полураспада до 30 дней. В анаэробных условиях период полураспада ХОП составлял 15.9 дня. Интересно, что дикофол может оставаться неразлагаемым в тканях растений до 2 лет.

Дильдрин является менее гидрофобным побочным продуктом альдрина с большей молекулярной массой ( $M_r$ ). Благодаря легкому и быстрому превращению альдрина в дильдрин концентрация последнего отражает суммарную концентрацию двух СОЗ. Пероральный ДСД дильдрина составляет  $0.05 \text{ мкг кг}^{-1}$  [33], но бывают случаи, когда суточная доза превышает допустимое значение в несколько раз: во Вьетнаме суточная доза достигает  $0.55 \text{ мкг}$  на человека; в Египте младенцы подвергаются воздействию  $1.22 \text{ мкг кг}^{-1}$  через грудное молоко. Период полураспада ХОП составляет около 5 лет.

Метоксихлор представляет собой белое или желтое кристаллическое вещество с периодом полураспада в воде и почве до одного года. ДСД пестицида составляет  $5 \text{ мкг кг}^{-1}$  [33].

Эндосульфан представляет собой коричневатый кристаллический ХОП, состоящий из двух  $\alpha$ - (70%) и  $\beta$ -стереоизомеров (30%). В почве  $\alpha$ -эндосульфан разлагается быстрее, чем  $\beta$ -изомер, следовательно, период полураспада  $\alpha$ -изомера намного короче (60 дней), чем у  $\beta$ -изомера – 900 дней [45]. Однако основным продуктом разложения эндосульфана в почве является его метаболит, эндосульфан сульфат. Вышеуказанные соединения не имеют тенденции к выщелачиванию в грунтовые воды. По сравнению с другими ХОП, эндосульфаны более растворимы в воде, и их обнаружение в пищевой цепи очень редко. ДСД  $\alpha$ ,  $\beta$  и эндосульфан сульфата составляет  $6 \text{ мкг кг}^{-1}$  [33].

Эндрин представляет собой химическое соединение в виде порошка. Под воздействием тепла и UV эндрин может превращаться в кетон,  $\delta$ -кетоэндрин и альдегид (Рисунок 2). Исследования абиотической деградации эндрина под воздействием UV излучения показали, что эндрин превращается в кетон (37%) и альдегид (9%) через 48 ч [46]. Способы удаления остатков эндрина из окружающей среды основаны на фото- и бактериальной деградации до менее токсичных соединений. Период полураспада эндрина составляет до 12 лет, в

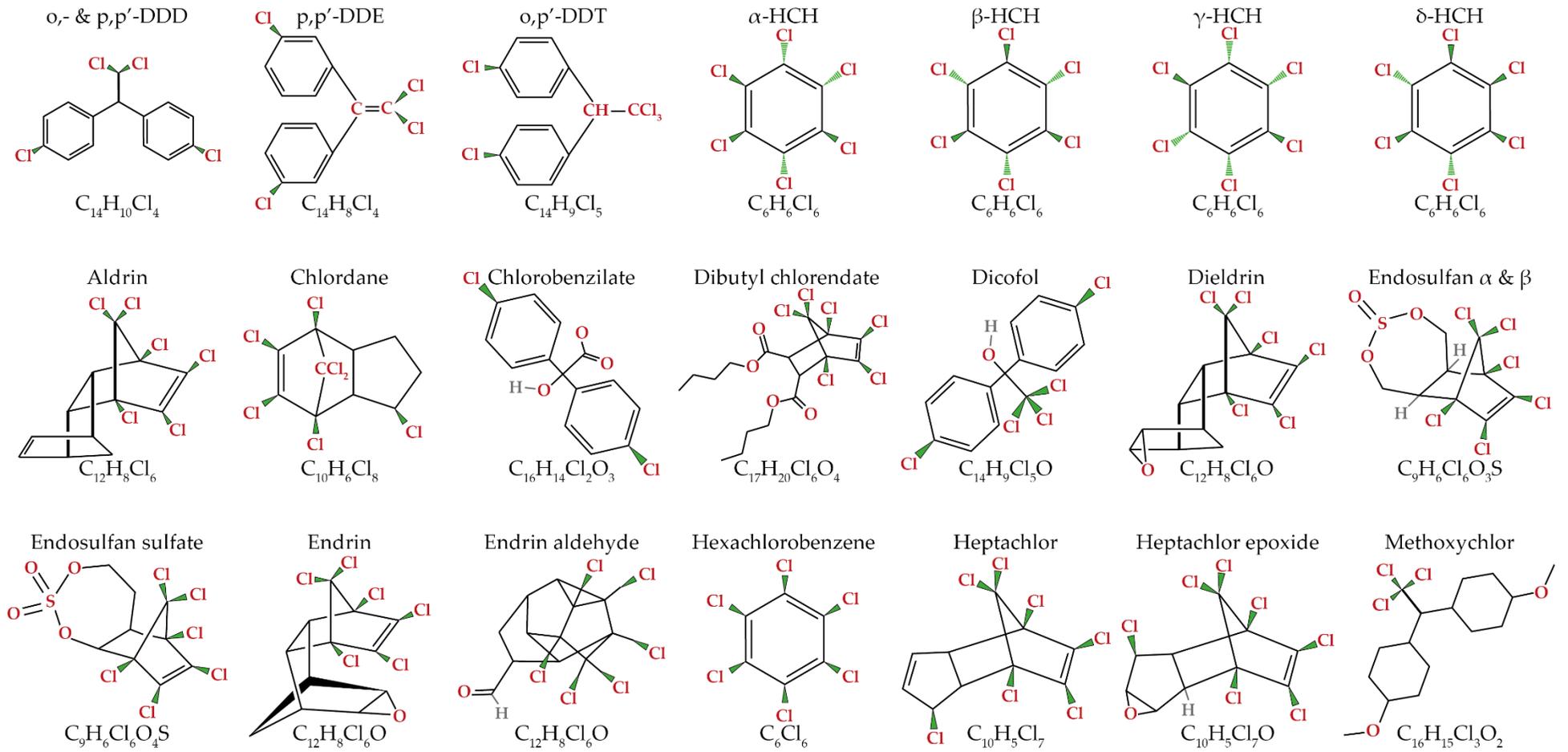


Рисунок 2 – Химическая структура и эмпирические формулы ХОП, часто обнаруживаемых в почвах Казахстана

зависимости от климатических и почвенных условий. Пероральный ДСД составляет  $0.3 \text{ мкг кг}^{-1}$  [33].

Хлорбензилат - это акарицид, обычно используемый для борьбы с клещами-фитофагами на citrusовых деревьях. Этот пестицид встречается в виде желтого твердого вещества, плохо растворимое в воде. Кроме того, хлорбензилат является одним из метаболитов ДДТ [37]. Пероральный ДСД хлорбензилата был определен в 1965 г. и составляет  $20 \text{ мкг кг}^{-1}$  [43]. С тех пор нет никакой информации о смертельной дозе пестицида, путях воздействия, ПДК для различных экологических матриц и т.д. (Таблица 1).

Хлордан - это пестицид широкого спектра действия, используемый для многих сельскохозяйственных культур. Его период полураспада составляет до одного года. В отличие от альдрина, хлордан несет угрозу для здоровья человека через воздух. Точный  $\text{LD}_{50}$  хлордана для человека не определен, хотя Derbes et al. [47] оценили смертельную пероральную дозу отравления хлорданом в 1955 г., и она составляла около 6 г, но интересно, что 30 лет спустя, согласно отчету ВОЗ [48], предполагаемый  $\text{LD}_{50}$  составлял от 25 до 50  $\text{мг кг}^{-1}$ . Пероральный ДСД составляет  $0.5 \text{ мкг кг}^{-1}$  [33].

ДДТ и его производные (ДДД и ДДЭ) представляют собой белые кристаллические твердые вещества, используемые против насекомых. Эти ХОП устойчивы к деградации и могут сохраняться в жировых тканях живых организмов благодаря их высокой липофильности. Пероральный ДСД ДДТ составляет  $0.5 \text{ мкг кг}^{-1}$  [33]. Помимо ДДД и ДДЭ, метаболитами ДДТ являются хлорбензилат, дикофол (кельтан) и метоксихлор. После приема внутрь ДДТ быстро превращается либо в ДДЭ, либо в 2,2-бис(4-хлорфенил)уксусную кислоту. Период полураспада в почве составляет до 10-15 лет.

Технический ГХЦГ состоит из пяти стабильных изомеров:  $\alpha$ - (65-70%),  $\beta$ - (7-10%),  $\gamma$ - (14-15%),  $\delta$ - (~7%) и  $\epsilon$ -ГХЦГ (~1-2%) [49].  $\beta$ -ГХЦГ является наиболее стойким ХОП среди пяти изомеров, в то время как  $\alpha$ -ГХЦГ является менее абсорбируемым (только 9.4%).  $\beta$ -,  $\gamma$ - и  $\delta$ -изомеры могут поглощаться живым организмом в пропорции 91%, 99% и 92%, соответственно [49].  $\alpha$ -ГХЦГ лучше разлагается в аэробных условиях по сравнению с анаэробными, периоды полураспада составляют 48 и 125 дней, соответственно. Что касается  $\beta$ -ГХЦГ, то период полураспада в аэробных условиях равен 91, в анаэробных – 122 дням. Средняя летальная доза смеси из пяти изомеров (технического ГХЦГ) для взрослого мужчины составляет  $0.4 \text{ г кг}^{-1}$ , тогда как для детей это значение в три раза ниже ( $0.18 \text{ г кг}^{-1}$ ) [49]. ДСД для  $\gamma$ -ГХЦГ составляет  $0.3 \text{ мкг кг}^{-1}$  [33].

Согласно предварительной инвентаризации СОЗ, датированной 2003 г., в Казахстане насчитывается 727 складов и 15 мест захоронения устаревших пестицидов [50]. Предварительная инвентаризация выявила следующие пестициды: 15 т токсафена в Северо-Казахстанской области; 24 т  $\gamma$ -ГХЦГ (линдана) в Атырауской области; 500 кг ДДТ в Восточно-Казахстанской области [50, р. 22]. Кроме того, 72% обнаруженных устаревших пестицидов представляют собой смеси неизвестного состава [50, р. 23]. В 2009 г. Институт биологии и биотехнологии растений провел инвентаризацию устаревших

запасов пестицидов в Талгарском районе Алматинской области, в который вошли 15 населенных пунктов. Результаты показали, что количество устаревших пестицидов сократилось с 122.7 т (2005 г.) до 21 т. Пять населенных пунктов, а именно колледж Амангельды 1, колледж Амангельды 2, Белбулак, Бескайнар и племзавод “Алматы”, все еще содержат их остатки и смеси [51]. Однако сокращение количества запасов и складов является лишь первым шагом на пути к восстановлению окружающей среды, которое положит конец высвобождению токсичных соединений. Но долгосрочные выбросы не исчезнут в экологических матрицах вокруг уничтоженных запасов, и для борьбы с этим необходимы новые зеленые технологии.

### 1.1.3 Характеристики ТМЭ и влияние на окружающую среду

Микроэлементы - это природные соединения, широко распространенные во всем мире и обнаруживаемые в следовых концентрациях в воде, почве и отложениях [52]. Загрязнение окружающей среды ТМЭ в большинстве случаев является следствием антропогенной деятельности, такой как добыча полезных ископаемых и выплавка, промышленное производство и использование, а также бытовое и сельскохозяйственное использование металлов и металлосодержащих соединений [53–56]. Однако не только антропогенная деятельность может привести к загрязнению окружающей среды ТМЭ, но и природные явления могут выступать в качестве источников загрязнения: коррозия металлов, атмосферные отложения, эрозия почвы и выщелачивание ТМЭ, ресуспендирование отложений и испарение металлов из водных ресурсов в почву и грунтовые воды, выветривание и извержения вулканов [56,57]. Химические и токсикологические характеристики ТМЭ представлены в Таблице 2.

Уровень загрязнения матриц окружающей среды, влияние загрязнения на пищевую цепочку и воздействие на человека рассматриваются и изучаются на территории Республики Казахстан. Литературные данные за последние 25 лет свидетельствуют о наличии в Казахстане сильно загрязненных участков, в основном токсичными металлами Cd, Pb и As, но также менее токсичными Cu и Zn, расположенных вблизи промышленных объектов [1, p. 43324].

Хром (Cr) представляет собой химическое соединение с молекулярной массой 52.0 г моль<sup>-1</sup>, которое может иметь три валентности: Cr<sup>0</sup>, Cr<sup>3+</sup> и Cr<sup>6+</sup>. Наиболее токсичной формой является шестивалентный хром. Средняя концентрация общего Cr в почве составила 77.9 мг кг<sup>-1</sup>. На территории Казахстана не было обнаружено очагов загрязнения хромом [1, p. 43322].

Марганец (Mn) является необходимым питательным веществом для человека, но в высоких концентрациях он может нанести вред здоровью. В природе Mn встречается в основном в виде соединений, например, оксидов, сульфатов или хлоридов. Средняя общая концентрация Mn в почве составила 648 мг кг<sup>-1</sup>, не превышая ПДК (Таблица 2) [1, p. 43325].

Элементный или чистый кобальт (Co) почти так же редок в окружающей среде, как Mn. Обычно Co встречается в сочетании с кислородом, серой и мышьяком. Его средняя концентрация в почве составляла 17 мг кг<sup>-1</sup> [1, p. 43325].

Очаг загрязнения был обнаружен в почве восточной части Павлодара с концентрацией  $63.4 \text{ мг кг}^{-1}$ , что в три раза превышало ПДК (Таблица 2) [58].

Table 2 – Свойства, уровень токсичности, представленный пероральной допустимой суточной дозой (ДСД) и летальной дозой (ЛД<sub>50</sub>) и пороговыми значениями концентраций ТМЭ для почвы в соответствии с законодательством Республики Казахстан (а: [59]) и Российской Федерации (б: [60]).

ТМЭ	$M_r$ , г моль <sup>-1</sup>	ДСД, мг кг <sup>-1</sup> [33]	ЛД <sub>50</sub> (крыса), г кг <sup>-1</sup> [34]	ПДК, мг кг <sup>-1</sup>	
				Подвижная	Валовая
Cr	52.0	1.5	III – 2	6 <sup>a</sup>	100 <sup>b</sup>
		0.003	VI – 0.11	-	-
Mn	54.9	0.14	1.5 [61]	140 <sup>b</sup>	1500
Co	58.9	0.008	0.55 [62]	5 <sup>a</sup>	20 <sup>b</sup>
Ni	58.7	0.02	0.43 [63]	4 <sup>a</sup>	20 <sup>b</sup>
Cu	63.5	0.04	0.47	3 <sup>a</sup>	33 <sup>a</sup>
Zn	65,4	0.3	0.62	23 <sup>a</sup>	55 <sup>b</sup>
As	74.9	0.0003	0.76	-	2 <sup>a</sup>
Cd	112.4	0.0005	0.23	-	0.5 <sup>a</sup>
Pb	207.2	0.0036	5.14 [62]	6 <sup>b</sup>	32 <sup>a</sup>

Никель (Ni) - это ТМЭ, который покрывает 6% ядра Земли. Валовые концентрации Ni в почве, превышающие ПДК до 8 раз (Таблица 2), были обнаружены в Алматы, в промышленной зоне Павлодара и вблизи металлургического завода Казахмыс на севере озера Балкаш [58, р. 173,64,65].

Медь (Cu) является важным питательным веществом для растений и животных, следовательно, они могут усваивать и накапливать ее во время еды, питья и дыхания. Почва вокруг корпорации "Южполиметалл" (Туркестанская область) была загрязнена Cu в концентрациях, превышающих ПДК для подвижных форм (Таблица 2) в 13.3-26.7 раза [66]. Тогда как загрязнение почвы вокруг Балкашского горно-металлургического комбината (БГМК) достигло превышения в 44.3 раза [66, р. 273]. Наиболее загрязненный Cu участок был обнаружен в Усть-Каменогорске с концентрацией  $856 \text{ мг кг}^{-1}$ , что превышало ПДК для общих концентраций Cu в 25.9 раза (Таблица 2) [67].

Очаги загрязнения почвы цинком (Zn) были обнаружены вблизи плавильного завода КазЦинк ( $2.4 \text{ г кг}^{-1}$ ) в Усть-Каменогорске и в промышленной зоне Риддера ( $1 \text{ г кг}^{-1}$ ), что в 43.6 и 18.2 раза превышало ПДК (Таблица 2) [67, р. 370].

Загрязнение почвы мышьяком (As) вызывает сожаление, средняя концентрация As составляет  $70.2 \text{ мг кг}^{-1}$ , что в 35 раз выше ПДК (Таблица 2) [68]. Были зафиксированы следующие повышения концентрации: в 19 раз в почве вокруг бывшего места добычи урана Кордай; в 23 раза в прибрежной зоне реки Или; в 38 раз в Северном Балкаше; и даже в 361 раз на Васильковском месторождении золотой руды (Акмолинская область) [65,69,70].

Загрязнение почвы кадмием (Cd) является довольно острой экологической проблемой на территории Казахстана по сравнению с другими ТМЭ из-за многочисленных очагов загрязнения. Пять участков с сильно загрязненными почвами были выявлены разными учеными, сообщенные концентрации Cd в очагах загрязнения составляли: а) 32.25 мг кг<sup>-1</sup> в Шымкенте; б) ~ 15 мг кг<sup>-1</sup> (до 27.4 мг кг<sup>-1</sup>) в почвах вокруг металла, а именно КазЦинк, плавильных заводов в Риддере и Усть-Каменогорске; в) 12-18 мг кг<sup>-1</sup> в нескольких сотнях метров от полигона Карасай (Алматинская область); г) 8-10 мг кг<sup>-1</sup> в <2.5 км от цементного завода Каспи (Мангистауская область) [66, р. 340,67, р. 368,71–74]. Таким образом, превышение концентраций Cd достигает 64.5 раз.

Загрязнение почвы свинцом (Pb) также имеет пять очагов, расположенных вблизи заводов по обработке металлов [68]. Почвы в радиусе 2 км от плавильных заводов КазЦинк в Риддере и Усть-Каменогорске загрязнены 500 мг Pb кг<sup>-1</sup>, тогда как с уменьшением радиуса до 1 км концентрация Pb увеличилась до 3.87 г кг<sup>-1</sup> (Усть-Каменогорск) [66, р. 214,67, р. 369]. Еще два очага загрязнения находятся вокруг корпорации "Южполиметалл" в Кентау и Шымкенте, где концентрации Pb превышают ПДК в 21.9 и 46.9 раза (Таблица 2), соответственно [66, р. 340]. Пятый очаг находится рядом с БГМК с концентрацией 870 мг Pb кг<sup>-1</sup> [66, р. 273].

## **1.2 Применение энергетических растений в фиторемедиации почв, загрязненных органическими и неорганическими поллютантами**

Фиторемедиация (от греч. "*phyto*" – растение и лат. "*remedium*" – очищать, восстанавливать) - это технология, которая использующая растения для локализации, разложения, иммобилизации и извлечения токсичных химических соединений из почвы. Технология была создана в 1990 г. [75]. В зависимости от происхождения загрязнителя (органического или неорганического) и механизмов восстановления фиторемедиацию можно разделить на 6 видов. Для восстановления почв, загрязненных неорганически, предлагаются следующие виды: а) фитоэкстракция, которая основана на поглощении загрязняющих веществ корнями и перемещении их в надземную биомассу (НЗБ) (листья, стебли, побеги, ветви); б) ризофильтрация, загрязняющие вещества в основном накапливаются в корнях без перемещения в НЗБ; и в) фитостабилизация, процесс основан на иммобилизации загрязняющих веществ в почве через корневые экссудаты растений [75, р. 1]. В случае органического загрязнения предлагается применять еще три вида: а) фитодеградация, когда загрязняющие вещества поглощаются корнями и под действием ферментативной активности растений преобразуются или разлагаются до менее токсичных или безопасных соединений; б) ризодеградация, процесс направлен на обеспечение благоприятных условий для микроорганизмов, способных разлагать загрязняющие вещества путем выделения питательных веществ, органических кислот, ферментов и т.д.; и в) фитоволотилизация, процесс поглощения загрязняющих веществ и их выброса в атмосферу [75, р. 2]. В настоящее время фиторемедиация является перспективной технологией, гармонично взаимодействующей с экосистемой. Преимущество технологии заключается в том, что она не требует дорогостоящего оборудования и подходит для

устранения широкого спектра загрязнителей окружающей среды, включая СО<sub>2</sub>. Более того, применение фиторемедиации не приводит к потере плодородия почвы. Однако технология имеет некоторые ограничения, такие как длина корней растений, длительное время восстановления, климатические различия и использование неэндемичных видов, которые могут привести к нарушению биоразнообразия [76]. Правильный выбор видов растений играет решающую роль в развитии процесса фиторемедиации.

Будущие исследования должны быть сосредоточены на оптимизации условий фиторемедиации для восстановления загрязненных почв и разработке методов удаления и утилизации загрязненной биомассы. Вследствие, эти исследования простимулируют развитие новых секторов в соответствии с Целями Устойчивого Развития, связанными с преобразованием биомассы в энергию и биопродукты [77,78].

### 1.2.1 Физиологические параметры и урожайность биомассы энергетических растений

Энергетические растения второго поколения должны обладать способностью быстрого роста и производства достаточного количества биомассы для удаления значительного количества загрязняющих веществ из почвы. Несомненно, характер восстановления будет напрямую зависеть от способности растения поглощать и накапливать соответствующий загрязнитель. В долгосрочной перспективе важным свойством биоэнергетических растений, которое необходимо учитывать, является высокое содержание лигнина, целлюлозы и лигноцеллюлозы, которые определяют качество производимой биомассы и влияют на ее применение.

Выбор видов энергетических растений является ключевым фактором, определяющим успех фиторемедиации загрязненных участков, следовательно, энергетические растения должны соответствовать следующим требованиям для того, чтобы быть использованными в фитотехнологии: а) быть устойчивыми к широкому спектру климатических условий; б) производить высокий урожай биомассы; в) содержать достаточное количество таких фракций волокон, как лигнин, целлюлоза и лигноцеллюлоза); и д) обладать способностью не только расти на загрязненных почвах, но также поглощать и накапливать загрязняющие вещества. В рамках таких соображений следующие энергетические культуры подходят для использования в фиторемедиации различных загрязненных почв: *Sida hermaphrodita* L. Rusby; *Panicum virgatum* L.; *Sorghum × drummondii* Steud.; *Paulownia tomentosa* (Thunb.) Steud.; *Pennisetum purpureum* Schum.; *Arundo donax* L.; *Miscanthus × giganteus* Greef et Deu; и *Miscanthus sinensis* And. (Рисунок 3).

*Sida hermaphrodita* L., также известная как мальва Вирджинская, является С<sub>4</sub> растением семейства *Malvaceae* (Рисунок 3). Она была завезена на территорию бывшего СССР в 1930-х гг. из Северной Америки и сейчас широко распространена по всей Европе. Растение хорошо переносит экстремальный континентальный климат, низкие температуры (до -20°C) и засуху. Мальва Вирджинская нуждается не менее чем в 400-500 мм осадков в год и предпочитает каменистые или песчаные почвы. Высота растения колеблется от 1 до 4 м при

средней урожайности биомассы 15-20 т DM га<sup>-1</sup> в год [79]. Растение имеет хорошо развитую корневую систему, которая обеспечивает доступ к ограниченным питательным веществам и воде в маргинальных почвах [80].

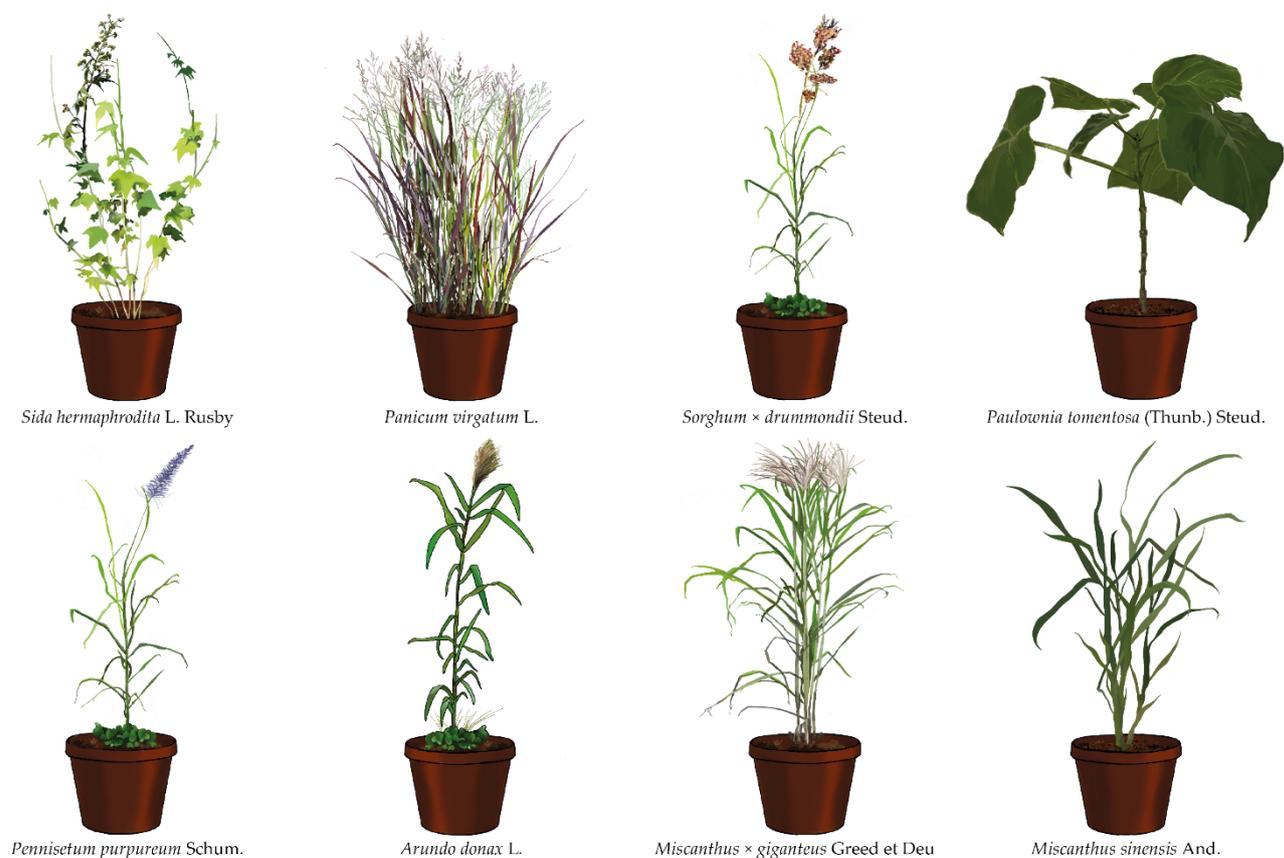


Рисунок 3 – Энергетические растения второго поколения

*Panicum virgatum* L., также известный как подорожник, является многолетним C<sub>4</sub> растением семейства *Poaceae* (Рисунок 3). Несмотря на свое географическое происхождение (Северная Америка и Канада), растение можно культивировать в широком диапазоне широт и долготы [81]. Подорожник хорошо переносит засуху и температурный диапазон от +6 до +36°C, ему требуется не менее 350 мм осадков в год, оптимальная влажность составляет от 500 до 1100 мм [79, р. 116]. Высота растений может достигать 2.7 м при средней урожайности биомассы 25 т DM га<sup>-1</sup> в год [82].

*Sorghum* × *drummondii* Steud., также известное как суданская трава, является однолетним быстрорастущим C<sub>4</sub> растением семейства *Poaceae* (Рисунок 3). Альтернативное название раскрывает происхождение растения, а именно Судан и Южный Египет. Растение представляет собой гибрид *Sorghum bicolor* и *Sorghum arundinaceum*. Суданская трава устойчива к засухе, но нетерпима к морозам, то есть к температурам ниже -5°C. Касательно годового количества осадков, растению требуется не менее 300 мм, но, как и для подорожника, благоприятный уровень значительно выше и составляет от 500 до 1000 мм в год

[79, p. 116]. Высота растений может достигать 3 м при средней урожайности биомассы 12-15 т DM га<sup>-1</sup> в год [79, p. 116].

*Paulownia tomentosa* (Thunb.) Steud, также известная как дерево Принцессы, является чрезвычайно быстрорастущим инвазивным энергетическим C<sub>4</sub> деревом семейства *Scrophulariaceae* (Рисунок 3). Растение происходит из Китая. *P. tomentosa* выдерживает широкий диапазон климатических условий от -20 до +40°C [83]. Таким образом, растение устойчиво к морозам, жаре и засухе и требует не менее 500 мм осадков в год. Высота деревьев может достигать 20-30 м при урожае биомассы 50 т DM га<sup>-1</sup> в год даже при неблагоприятных условиях, в то время как при оптимальных условиях роста урожай биомассы может достигать 330 т DM га<sup>-1</sup> в год [84,85].

*Pennisetum purpureum* Schum., также называемый Напье или Слоновой травой, является многолетним C<sub>4</sub> растением семейства *Poaceae* (Рисунок 3). Слоновая трава происходит из Африки и в настоящее время широко распространена в тропических и субтропических регионах [81, p. 14]. Трава предпочитает узкий температурный диапазон (от 25 до 40°C) и высокий уровень влажности, поэтому благоприятное годовое количество осадков колеблется от 910 до 2500 мм, тем не менее, растение способно переносить засуху.

*Arundo donax* L., также известный как гигантский тростник, является многолетним C<sub>3</sub> растением семейства *Poaceae*, происходящим из Азии и Средиземноморского бассейна (Рисунок 3). Гигантский тростник хорошо переносит диапазон температур от 7 до 29°C и длительные периоды засухи [79, p. 118]. Растению требуется не менее 300 мм осадков в год, однако оно способно выдерживать до 4000 мм. Высота *A. donax* обычно колеблется от 6 до 8 м, однако при благоприятных условиях может достигать 10 м. Урожайность биомассы в Италии составляет до 60 т DM га<sup>-1</sup> в год [81, p. 13].

*Miscanthus × giganteus* Greef et Deu (*M. × giganteus*), также называемый Мискантус гигантский, является многолетним неинвазивным C<sub>4</sub> растением семейства *Poaceae* (Рисунок 3). Трава представляет собой гибрид *Miscanthus sinensis* и *Miscanthus sacchariflorus*, происходящих из Китая и Японии, соответственно. *M. × giganteus* переносит низкие температуры (до -6°C), засуху и нуждается по крайней мере в 150-300 мм осадков в год [79, p. 117]. Высота растения может достигать 4 м при урожайности биомассы 15-29 т DM га<sup>-1</sup> в год (Таблица 3). Кроме того, трава обладает потенциалом увеличивать содержание углерода, питательных веществ и биоразнообразия, а также снижать сток и вымывание питательных веществ в почве. Растение может культивироваться на маргинальных, заброшенных постиндустриальных участках и почвах бывших военных полигонов [86–89].

*Miscanthus sinensis* And. (*M. sinensis*), также известный как китайская серебряная трава, является многолетним инвазивным C<sub>4</sub> растением семейства *Poaceae* (Рисунок 3). Трава выдерживает температурный диапазон от -2 до +32°C. Высота растения обычно колеблется от 0.8 до 2 м, но при благоприятных условиях может достигать 4 м. Урожай биомассы зависит от климатических условий и может достигать 36.6 т DM га<sup>-1</sup> в год (Таблица 3).

Среди вышеперечисленных растений, с точки зрения толерантности к различным климатическим условиям, *Panicum virgatum* L., *Pennisetum purpureum* Schum. и *Arundo donax* L. не подходят для использования в фиторемедиации загрязненных почв Казахстана. С точки зрения продуктивности биомассы, *Sida hermaphrodita* L. и *Sorghum × drummondii* Steud. имеют самые низкие средние значения (Таблица 3). Таким образом, три энергетических растения подходят для применения в фиторемедиации загрязненных почв в Казахстане.

В таблице 3 представлены основные характеристики энергетической продуктивности и урожайности биомассы при выращивании вышеуказанных энергетических растений на загрязненных почвах разных стран. Значения ННУ для трех оставшихся энергетических растений почти одинаковы и равны 18.7, 17.5 и 18.0 для *P. tomentosum*, *M. × giganteus*, и *M. sinensis*, соответственно (Таблица 3). Gołab-Bogacz et al. [90] назвали Мискантус является наиболее урожайной культурой среди известных энергетических растений, способных к фиторемедиации. Следующим критерием отбора является содержание фракций волокон, т.е. лигнина,  $\alpha$ -целлюлозы и гемицеллюлозы. Таким образом, Мискантус и Павловния содержат 22.5% и 22.4% лигнина, 39.1% и 37.4%  $\alpha$ -целлюлозы и 26.1% и 33.3% гемицеллюлозы, соответственно [91,92]. Было доказано, что биомасса *Miscanthus sp.* имеет перспективу переработки в биотопливо, волокна, бетонные изделия и строительные материалы [93–96].

### 1.2.2 Фиторемедиационный потенциал энергетических растений

Первые исследования по использованию фиторемедиации для очистки почв, загрязненных СОЗ-пестицидами, были опубликованы в 1960-1970 гг.: альдрин, гептахлор и дильдрин [97]. Исследования поглощения СОЗ корнями растений и их транслокации в НЗБ были начаты в 1970-х гг. и были нацелены на предотвращении переноса СОЗ по пищевой цепочке в системе “растение – животное - человек”. Все эти исследования показали, что *Cucurbita pepo spp. pepo* является перспективным видом, способным поглощать и обезвреживать СОЗ. Åslund et al. [98] и Zeeb et al. [99] сообщили, что не только вышеуказанные виды растений, но и *Carex normalis* и *Festuca arundinaceae* накапливают ПХБ в побегах. Более того, коэффициент биоконцентрации (BCF) ПХБ в побегах *Carex normalis* был ниже 1 и варьировался в пределах 0.3-0.5 [99]. В 2013 г. в корнях *Cryptolepis sanguinolenta* было проанализировано 14 ХОП, а именно  $\beta$ -ГХЦГ,  $\delta$ -ГХЦГ,  $\gamma$ -ГХЦГ,  $\gamma$ -хлордан,  $\alpha$ -эндосульфат,  $\beta$ -эндосульфат, гептахлор, альдрин, *p,p'*-ДДЭ, дильдрин, эндрин, *p,p'*-ДДД, *p,p'*-ДДТ и метоксихлор. Концентрации в корнях варьировались от 6-61 мкг кг<sup>-1</sup> в сухой сезон до 1-11 мкг кг<sup>-1</sup> в сезон дождей. Таким образом, было обнаружено повышенное поглощение ХОП в сезон засухи [100].

Paul et al. [101] провели полевое исследование в трех районах, загрязненных ДДТ, в Канаде. *Cucurbita pepo* три эндемичных вида, *Schizachyrium scoparium*, *Panicum virgatum*, и *Sporobolus cryptandrus*, выращивались на трех разных участках с низким (291 мкг кг<sup>-1</sup>), умеренным (5083 мкг кг<sup>-1</sup>) и высоким (10 192 мкг кг<sup>-1</sup>) загрязнением ДДТ. Пороговая концентрация ДДТ в почве была определена на уровне ~ 5000 мкг кг<sup>-1</sup>, где поглощение ДДТ *C. pepo* было

Таблица 3 – Характеристики энергетической емкости растений, культивируемых в разных странах [79, p. 120]

Энергетическое растение	Страна	Урожай биомассы, т DM га <sup>-1</sup> в год	ННВ, МДж кг <sup>-1</sup>	Энергетический выход, ГДж га <sup>-1</sup>	Потребление энергии, ГДж га <sup>-1</sup>
<i>Sida hermaphrodita</i> L. Rusby	Литва	4.7 – 7.5	17.5 – 18.4	79 – 105	8.6 – 29.3
	Германия	6.3 – 23.3	19.2 – 19.6	123 – 447	-
	Словакия	-	18.8	-	-
<i>Panicum virgatum</i> L.	Италия	-	18.5 ± 0.3	-	-
	Украина	17.5 – 27.3	15.0 – 15.6	284 – 460	-
<i>Rumex patientia</i> × <i>Rumex tianshanicus</i>	Молдавия	12.2	-	200	-
	Словакия	-	18.0 – 18.9	-	-
<i>Paulownia tomentosa</i> (Thunb.) Steud.	Новая Зеландия	-	19.1 – 20.1	-	-
	Испания	-	18.3	-	-
	Словакия	-	16.4 – 19.7	-	-
<i>Miscanthus</i> × <i>giganteus</i> Greef et Deu	Италия	15.0 – 28.7	16.5 – 18.5	173 (1 <sup>ый</sup> год) 858 (2 <sup>ой</sup> год) 342 – 609	12.8 – 26.5 (1 <sup>ый</sup> год) 4.1 – 17.9
	Германия	-	17.7	-	-
	Великобритания	15.0 – 21.3	9.5 – 20.2	-	-
	Хорватия	-	18.1 – 18.2	-	-
	Польша	-	17.7 – 20.2	-	-
	Словакия	-	16.3 – 19.6	-	-
<i>Miscanthus sinensis</i> And.	Германия [102]	-	16.0 – 18.2	-	-
	Словакия [103]	4.8 (1 <sup>ый</sup> год) 14.1 – 36.6	18.8 – 19.2	72.6 (1 <sup>ый</sup> год) 223 – 579	-
	Северная Корея [104]	-	16.8	-	-
	Польша [105]	-	18.0 – 19.2	-	-
	Нидерланды [106]	-	18.7	-	-

максимальным, что привело к концентрации ДДТ в побегах и корнях растений, равной 16 600 и 45 000 мкг кг<sup>-1</sup>, соответственно. Два эндемичных вида трав (*P. virgatum* и *S. scoparium*) были идентифицированы как потенциальные фитоэкстракторы с более высокими возможностями накопления в побегах, чем у известного фитоэкстрактора *C. pepo*, когда учитывалась оптимальная плотность посадки [107].

*M. × giganteus* отлично подходит для использования в фиторемедиации благодаря своей способности расти в одной и той же почве до 20 лет, непрерывно производя биомассу. Трава устойчива к высоким концентрациям ТМЭ в почве по следующим причинам: а) большая и хорошо развитая корневая и корневищная система с интенсивным метаболизмом; б) корни выделяют 17 аминокислот, а интенсивность зависит от природы загрязнения; в) превосходная антиоксидантная и фотосинтетическая способности уменьшают повреждения, вызванные стрессом; д) разнообразие ризосферных микроорганизмов, способных способствовать поглощению питательных веществ и нетоксичному поглощению ТМЭ [79, p. 120]. Среди энергетических культур Мискантус обладает более высокой способностью к извлечению ТМЭ из почвы. Эффективность извлечения может достигать 98% для As, 86% - Cu, 78% - Pb, 61% - Ni, 56% - Ni, и 43% для Zn [108]. Способность к поглощению напрямую коррелирует с урожайностью биомассы растений: чем выше урожай, тем более резкое снижение концентраций ТМЭ в почве. *M. × giganteus* может поглощать 55 г Cd га<sup>-1</sup>, 85 г Pb га<sup>-1</sup> и 720 г Zn га<sup>-1</sup> ежегодно из почв военных полигонов [89,109]. Многочисленные исследования доказали эффективность *M. × giganteus* в фиторемедиации почв, загрязненных ТМЭ [110–114]. Однако в случае загрязнения почвы ХОП, растение не обладает толерантностью к концентрациям, превышающим 2×ПДК (241 ± 16 мкг кг<sup>-1</sup>) [115]. Между тем *M. sinensis* был более толерантен - до 62×ПДК [115, p. 65]. Таким образом, принимая во внимание способность растения расти на органически загрязненной почве, *M. sinensis* является реальным кандидатом для ремедиации почв, загрязненных ХОП.

### **1.3 Влияние органических и неорганических почвенных добавок на фиторемедиационный процесс и урожайность биомассы**

Эффективность фиторемедиации зависит от степени загрязнения почв, доступности ксенобиотиков для ризобактерий, фитодоступности, способности растений и связанных с ними ризобактерий перехватывать, поглощать, накапливать и/или деградировать их [116]. Для улучшения вышеуказанных аспектов процесса фиторемедиации были протестированы органические кислоты, поверхностно-активные вещества, наночастицы, рамнолипиды, биочар и ассоциации растений и микроорганизмов, т.е. органические и неорганические почвенные добавки.

#### **1.3.1 Низкомолекулярные соединения**

Корни растений выделяют широкий спектр соединений, таких как аминокислоты и органические кислоты (янтарная, аконитовая, винная, яблочная,

малоновая, щавелевая и лимонная кислоты), сахара и ферменты, которые находятся в сложных взаимодействиях между абиотическими и биотическими компонентами ризосферы. Они различаются корнями растений в трех случаях: недостаток питательных веществ, токсичность загрязняющих веществ и аноксия [117].

Органические кислоты - это слабые кислоты, которые проявляют различное кислотное поведение. Поскольку органические кислоты могут диссоциировать на карбоксильные группы и нести один или несколько отрицательных зарядов, они играют важную роль не только в метаболизме при производстве энергии в качестве промежуточных звеньев в трикарбонном цикле, но и в большинстве клеточных метаболических путей [118]. В 1995 г. была выдвинута гипотеза о способности корней растений выделять вещества, которые связываются с молекулами CO<sub>2</sub> в почве, образуя гидрофильный комплекс, который может поглощаться корнем и транспортироваться в НЗБ [119]. Пять лет спустя гипотеза была доказана: экссудаты корней *Cucurbita pepo* напрямую связываются с молекулами диоксинов и фуранов, тем самым повышая их гидрофильность и облегчая транслокацию в НЗБ [120]. Внесение в почву, загрязненную *p,p'*-ДДЭ, низкомолекулярных органических кислот увеличило поглощение ХОП в ткани *Cucurbita pepo* до 58%: янтарной – на 19%; винной - на 27%; яблочной - на 31%; малоновой - на 36%; щавелевой - на 45%; и лимонной - на 58% [121]. Внесение цитрата (0.05 М) в почву, загрязненную *p,p'*-ДДЭ, увеличило его накопление в корнях *Trifolium incarnatum*, *Brassica juncea*, и *Vicia villosa* на 39%. Для каждого вида растений наблюдалось значительное снижение концентрации *p,p'*-ДДЭ в ризосфере. Корни растений накапливали ХОП в 2-5 раз больше, чем его концентрация в почве, таким образом, ВСФ для корней растений составлял 2-5 [122].

Эти исследования указывают на то, что фиторемедиация является контролируемым процессом; добавление низкомолекулярных органических кислот вызывает частичное растворение структуры почвы путем хелатирования неорганических структурных ионов, потенциально увеличивая биодоступность и влияя на фиторемедиацию органически загрязненной почвы.

### 1.3.2 Поверхностно-активные вещества

Поверхностно-активные вещества (ПАВ) - это химические соединения, которые вызывают снижение поверхностного натяжения, концентрируясь на границе термодинамических фаз. ПАВ могут увеличить потенциальную растворимость в воде гидрофобных органических соединений, инкапсулируя их внутри гидрофобной сердцевины мицеллы. Например, ПАВ увеличили растворимость ПХБ в системе «почва - вода» [123]. Добавление ПАВ в качестве корректирующих агентов к органически загрязненным средам в основном использовалось для повышения биодоступности гидрофобных соединений за счет усиления массопереноса из твердой почвы в водную жидкую фазу [123, p. 945].

ПАВ химического или синтетического (Tween, Полисорбат, Сурфакс, Тритон и др.) и биологического (рамнолипиды) происхождения используются

для оптимизации условий фиторемедиации. Неионный Tween 80 и анионный додецилсульфат натрия (SDS) ПАВ были протестированы для увеличения десорбции ХОП из загрязненной почвы в воду [124]. Tween 80 усиливал десорбцию *p,p'*-ДДТ, *p,p'*-DDE и  $\alpha$ -циперметрина; SDS вел себя аналогично по отношению к *p,p'*-ДДТ, *p,p'*-DDE,  $\alpha$ -циперметрину,  $\alpha$ -эндосульфату и сульфату эндосульфана. Добавление Tween 20 и Tween 80 увеличило удаление полиароматических углеводородов (ПАУ) из загрязненной почвы на 82% и 85%, соответственно, снизив их гидрофобность [125]. Более того, Tween 20 стимулировал рост гипокотилия (на 90%), повышал проницаемость мембран, что, следовательно, улучшало усвоение питательных веществ корнями и приводило к увеличению веса НЗБ [126–128]. В целом, неионные ПАВ обладают более высокой способностью к солубилизации и более низкой стоимостью по сравнению с катионными и анионными ПАВ.

Рамнолипиды оказались более подходящими в качестве биологически активных заменителей, поскольку они, как правило, нетоксичны и быстро разлагаются в почве. Рамнолипиды представляют собой класс гликолипидов, продуцируемых *Pseudomonas aeruginosa*. Добавление рамнолипида увеличило биодоступность *p,p'*-ДДЭ для гипераккумулятора *Cucurbita pepo ssp. pepo* и неаккумулятора *C. pepo ssp. ovifera*, также увеличились ВСФ для корней, листьев и плодов обоих растений. Однако биомасса *C. pepo ssp. ovifera* снизилась на 60%, таким образом, концентрации *p,p'*-ДДЭЭ в вегетативных органах были ниже в сравнении с контролем. В то же время, влияния на биомассу *C. pepo ssp. pepo* не было обнаружено, при значительном повышении концентраций ХОП в тканях растения. Более того, внесение рамнолипида в сильно загрязненную почву (*p,p'*-ДДТ  $\sim 1100$  мкг кг<sup>-1</sup>) увеличило поглощение ХОП *C. pepo ssp. pepo* cv. [129].

### 1.3.3 Углеродсодержащие материалы

В последние годы все больше внимания уделяется использованию богатых углеродом материалов, таких как древесный уголь, биочар и активированный уголь (АУ), для стабилизации органических загрязнителей *in situ* в почвах [130]. Материалы, богатые углеродом, действуют противоположно ПАВ, снижая биодоступность загрязняющих веществ для растений [131]. АУ - это уголь с высокой сорбционной способностью благодаря химической структуре, высокой пористости и большой площади поверхности (SBET) [132]. Использование АУ для восстановления загрязненных систем восходит к 1940-м гг., и, несмотря на фантастические результаты, его широкомасштабное применение непрактично и невозможно из-за его высокой цены. По этой причине ученые задумались о создании аналогов АУ, обладающих теми же свойствами, но более низкой ценой [133]. Биочар - это продукт, богатый углеродом, получаемый при сжигании биомассы, такой как древесина, навоз или листья, при относительно низких температурах в среде с низким содержанием кислорода.

Биочар использовался в различных областях применения, включая кондиционирование и рекультивацию почвы, улавливание углерода и очистку воды [134]. В нескольких исследованиях сравнивался эффект биочара, полученного из различных отходов (растительных материалов, опилок и других

древесных материалов, рисовой шелухи, нефтяных отходов, отходов удобрений, зольной пыли, отходов сахарной промышленности и т.д.). Удаление органических загрязнителей варьировалось от 80% до 99.9%. Использование биочара имеет ряд преимуществ. Это недорогой и возобновляемый адсорбент, который может секвестрировать загрязняющие вещества различного происхождения (химического, биологического, физического). Биочар может улучшить качество почвы за счет поглощения углерода, увеличить емкость катионного обмена и снизить потребность в удобрениях [135,136]. Биочар быстро набирает популярность, но опубликовано лишь ограниченное число исследований по использованию биочара для минимизации биодоступности загрязняющих веществ, и большинство из этих исследований основаны на лабораторных опытах [137,138]. Что касается PCDD и PCDF, внесение в почву биочара увеличило их биодоступность до 90.7% [139]. Что касается ПХБ, то их концентрация в корнях *S. perov*, выращенных на почве с добавлением 2.8% АУ, биочара Берта и биочара BlueLeaf, снизилась на 74%, 72% и 64%, соответственно [140].

Таким образом, биочар оказывает очевидное влияние на биодоступность пестицидов и их деградацию живыми организмами. Несмотря на все большее количество недавно опубликованных исследований о положительном влиянии биочара на поглощение ХОП, мало внимания уделяется влиянию биочара на механизмы поглощения и десорбции пестицидов как эффективных агентов, влияющих на их биодоступность и токсикологические эффекты.

#### 1.3.4 Наночастицы

Наномелиорация - это новая область экологической биотехнологии, которая подразумевает способность наночастиц Ag, Au, Mg и Fe вызывать дегалогенирование галогенуглеродных пестицидов. Наноматериалы могут либо непосредственно вступать в реакцию с загрязнителем, либо способствовать их превращению в менее токсичные формы [141]. Наночастицы используются во всем мире для почти 100%-ного разложения ДДТ за очень короткий период [142]. Дехлорирование ДДТ в водной фазе, содержащей биосурфактант, проводили с использованием биметаллической системы Mg/Pd. Высокая концентрация в 100 ppm была успешно разложена за очень короткое время, всего за 1 час. Было обнаружено, что биметаллические наночастицы Ni/Fe также эффективны при разложении ДДТ в водном растворе в слабокислых или щелочных условиях. Кислая среда способствует эффективному разложению ДДТ, поскольку производство протонов помогает генерировать водород [143]. Применение наноразмерного Fe с нулевой валентностью (nZVI) для эффективного разложения ДДТ в воде и почве привело к 92% и 22.4% деградации, соответственно. Довольно слабая деградация ДДТ в почве может быть объяснена старением почвы и низкой скоростью диффузии ХОП [144]. nZVI может полностью и быстро разлагать линдан ( $\gamma$ -ГХЦГ) в течение 24 ч с образованием  $\gamma$ -3.4.5.6-тетрахлорциклогексана (нестабильного промежуточного продукта), который в конечном итоге превращается в более мелкие ионы бензола и хлорида. Линдан эффективно разлагался (100%) при освещении в присутствии

TiO<sub>2</sub>, легированного азотом в соотношении 16:1 M, в то время как при воздействии только ультрафиолетового излучения деградация составляла 37.5% [145]. Наночастицы сульфидного железа, стабилизированные биополимерами, успешно разлагали линдан с эффективностью 94% в течение 8 ч [146].

Применение наночастиц в процессе фиторемедиации было впервые осуществлено в 2016 г. *Alpinia calcarata*, *Ocimum sanctum*, и *Cymbopogon citratus* выращивали на почве, загрязненной эндосульфатом ( $1139.84 \pm 0.93$  мкг кг<sup>-1</sup>), в присутствии и отсутствии nZVI (1 г кг<sup>-1</sup>). Измерения почвы проводились на 7-й, 14-й, 21-й и 28-й дни. *A. calcarata* обладала лучшей эффективностью по сравнению с двумя другими растениями, и эффективность снижалась в следующем порядке: *A. calcarata* > *C. citratus* > *O. sanctum*. Скорость удаления эндосульфата, измеренная на 7-й день, была самой высокой (82% было удалено в течение 7 дней) в экспериментах по нанофиторемедиации с *A. calcarata*, но затем постепенно снижалась, вероятно, из-за снижения активности nZVI с течением времени [147]. Таким образом, комбинированная технология нано- и фиторемедиации является одним из перспективных направлений для восстановления ХОП.

### 1.3.5 Ассоциации растений и микроорганизмов (АРМ)

Отношения между растениями и микроорганизмами при фиторемедиации включают отношения ризобактерий, которые колонизируют поверхности корней и разлагают органические загрязнители; эндофитных бактерий, которые колонизируют внутреннюю поверхность стеблей растений и разлагают органические соединения; и бактерий, способствующие росту растений (PGPB), которые оказывают благотворное влияние на рост и развитие растений [148]. Микроорганизмы играют ключевую роль в функциях почвенной экосистемы и выполняют важные функции, в особенности минерализацию органического вещества, круговорот питательных веществ и вклад в образование гуминовых веществ [149].

Органические ксенобиотики подавляют развитие растений, тем самым снижая эффективность фиторемедиации, и для преодоления ограничений используются ассоциации растений и микроорганизмов (АРМ). В последнее время было опубликовано множество исследований по оптимизации процесса фиторемедиации и стимулированию производства растительной биомассы с использованием эндофитов и ризобактерий. Вышеперечисленные микроорганизмы обладают различными механизмами: ризобактерии колонизируют поверхность корней, в то время как эндофитные бактерии колонизируют внутри растительного организма, не вызывая патогенности. Эндофитные популяции, так же как и популяции ризосферы, восприимчивы к биотическим и абиотическим факторам, но их можно защитить от них. Еще одним преимуществом эндофитов является то, что среди них распространены бактерии, способные разлагать органические загрязнители. Эндофиты могут снижать фитотоксичность и общее испарение летучих органических соединений. Поскольку эндофитные бактерии колонизируют внутри растения, они могут взаимодействовать более тесно по сравнению с ризобактериями. Прежде чем

попасть в растение, эндофиты должны поселиться в ризосфере и прикрепиться к поверхности корня. Органические соединения, то есть корневые экссудаты, действуют как сигналы для хемотаксического движения бактерий. Во время перехода от ризосферы к эндосфере растений колонизирующие бактерии должны быть способны быстро адаптироваться к совершенно другой среде (т.е. рН, осмотическому давлению, источникам углерода, доступности кислорода). Более того, им необходимо преодолеть защитную реакцию растений на вторжение. Наиболее важным преимуществом использования эндофитных разлагающих веществ во время фиторемедиации является то, что любой токсичный ксенобиотик, поглощенный растением, может разлагаться внутри растения, тем самым уменьшая фитотоксический эффект и устраняя любое токсическое воздействие на растительную фауну, обитающую на загрязненных участках или вблизи них [150]. Было изучено партнерство различных видов растений и эндофитов, т.е. ивы и *Burkholderia* sp. HU001, *Pseudomonas* sp. HU002 для накопления Cd; тополя и *Enterobacter* sp. PDN3; *L. multiflorum* var. Taurus и *Pseudomonas* sp. ITRI53, *Pseudomonas* sp. MixRI75 для разложения углеводов; ; *L. multiflorum* var. Taurus, *L. corniculatus* var. Leo, *M. sativa* var. Harpe и *Enterobacter ludwigii* для деградации углеводов; тополя и *Pseudomonas putida* W619-TCE; люпина желтого и *Bacillus cepacia* VM1468; *Triticum* sp. и *Z. mays* и *Burkholderia cepacia* FX2; *Pisum sativum* и *Pseudomonas putida*; *Triticum* sp. и *Z. mays* и *Enterobacter* sp. 12J1; *Pisum sativum* и *Pseudomonas putida* VM1450 для разложения 2,4- дихлорфеноксиуксусной кислоты [151–155].

Как правило, рассматриваются две основные технологии по обогащению производства биомассы Мискантуса на загрязненных ТМЭ почвах. Первая технология заключается в том, чтобы воздействовать на почву, добавляя различные добавки, такие как удобрения, отложения и биотвердые вещества, или внося в систему лимонную кислоту, ЭДТА и грибы. Вторая технология основана на воздействии на корневища, которое может быть достигнуто путем совместного компостирования, обработки регуляторами роста растений и включения микробных организмов [89, р. 342,148, р. 124].

В последнее время широко изучается использование микроорганизмов, в частности - RGPB, для стимулирования роста растений и восстановления почвы, загрязненной ТМЭ. RGPB обычно облегчает адаптацию растения к неоптимальным условиям почвы во время стресса и повышает эффективность фиторемедиации, способствуя росту растений, изменяя биодоступность ТМЭ, уменьшая фитотоксичность в почве и увеличивая транслокацию ТМЭ внутри растения. RGPB производит различные химические вещества, такие как аминокислоты, белки и антибиотики, которые помогают растениям преодолевать токсичность ТМЭ. RGPB обладает потенциалом для минимизации вредных эффектов ТМЭ путем восстановления, окисления, метилирования или деметилирования, разделения и преобразования в менее токсичное состояние [156]. Zeng et al. [157] исследовали роль внеклеточного полимерного вещества (EPS), продуцируемого *Bacillus* sp. S3, в детоксикации против различных ТМЭ, особенно Sb, Cu, Cd и Cr. EPS *Bacillus* sp. S3 значительно усиливал адсорбцию и детоксикацию ТМЭ. Аналогичным образом, Ndeddy Aka и Babalola [158]

заявили, что инокуляция почвы бактериальными штаммами, *Pseudomonas aeruginosa* KP717554, *Alcaligenes faecalis* KP717561 и *Bacillus subtilis* KP717559, увеличила количество растворимого Ni, Cd и Cr на 51%, 50% и 44%, соответственно. Этот эффект может быть обусловлен образованием органических кислот, солюбилизацией фосфатов и окислительно-восстановительными реакциями. Khan et al. [159] выявили важность *Catharanthus roseus* и их ассоциации с ризобактериями в фиторемедиации почвы, загрязненной Cu и Pb. Авторы проиллюстрировали, что *C. roseus*, инокулированный бактериальными штаммами *Pseudomonas fluorescens* RB4 и *Bacillus subtilis* 189, демонстрировал более высокие параметры биомассы из-за смягчения стресса от ТМЭ. Эксперименты с микрокосмом продемонстрировали, что инокуляция почвы RGPB, т.е. *Pseudomonas* sp. A3R3 или *Psychrobacter* sp. SRS8, улучшила производство биомассы растений и повлияла на параметры фиторемедиации. *Pseudomonas* sp. A3R3 оказывал большее влияние на урожайность биомассы растений, тогда как *Psychrobacter* sp. SRS8 влиял на накопление ТМЭ в растениях [160]. Hassan et al. [156, p. 524] изучали влияние RGPB: *Bacillus cereus* и *Pseudomonas moraviensis* на производство пшеницы в засоленной и загрязненной ТМЭ почве. Результаты показали, что максимальное снижение BCF наблюдалось для Cd, Co, Cr и Mn. Инокуляция *P. moraviensis* уменьшила BCF, а также TLF для Cd, Cr, Cu, Mn и Ni. Существует лишь несколько исследований, в которых изучалось влияние RGPB на продуктивность биомассы *Miscanthus* sp. в почве, загрязненной ТМЭ [161,162]. Эндифитный RGPB *Pseudomonas koreensis* был исследован для усиления урожайности *M. sinensis*, культивируемого на почве, загрязненной As, Cd, Cu, Pb и Zn. Результаты показали, что концентрации ТМЭ в корнях и побегах растений, выращенных в инокулированной почве, были выше по сравнению с контролем [161, p. 165].

Несмотря на существующие исследования по изучению влияния RGPB на фиторемедиацию загрязненных почв, воздействие микробной обработки на урожайность биомассы растений второго поколения раскрыто ограничено. Особенности фиторемедиации почв, загрязненных ТМЭ, с использованием энергетических растений второго поколения, предварительно обработанных RGPB, в литературе не представлены.

#### **1.4 Перспективность каскадной утилизации биомассы для энергетической промышленности**

Мискантус эффективно преобразует солнечную энергию в энергию биомассы благодаря C<sub>4</sub>-фотосинтезу. Кроме того, растение потенциально может сжигаться для производства тепла и электроэнергии и использоваться в качестве сырья для различного промышленного применения, для производства бумаги, целлюлозы, биоэтанола, биочара и т.д. [163–167]. Энергетическое растение способствовало стабилизации почв, загрязненных ТМЭ, на участках добычи полезных ископаемых и военных полигонов [89, p. 342,112, p. 13331,168]. Как многолетняя культура, Мискантус обычно высаживают только один раз, а затем он дает ежегодный урожай в течение 10-20 лет. После сбора урожая некоторые отходы листьев и корневищ можно обработать и использовать для внесения

удобрений в почву. То же самое относится и к отходам Мискантуса, полученным из переработанных строительных материалов. Когда отходы, полученные из Мискантуса, обрабатываются, их можно превратить в биочар. Внесение удобрений в почву с помощью биочара может способствовать повышению урожайности сельскохозяйственных культур (как удобрение) и качества почвы (как кондиционер почвы), а также способствовать восстановлению почв, загрязненных пестицидами [169–171]. Согласно Budai et al. [172], Мискантус как исходное сырье имеет отличительную сигнатуру углерода (С), которая отличается от органического вещества (ОМ) почвы, и полученный из него биочар может быть кремниевым удобрением. Чтобы завершить цикл «value chain» производства Мискантуса, фитомэнэджмента и преобразования в энергию или любой продукт, отходы, образующиеся в результате этих процессов, должны быть возвращены в производственный цикл, чтобы обеспечить устойчивое использование исходного сырья Мискантуса и снизить затраты. Переработка отходов Мискантуса с помощью термохимических процессов, таких как пиролиз, для получения биочара (и энергии) и, следовательно, его повторного использования при выращивании, приведет к производству и переработке Мискантуса с нулевыми отходами («zero-waste»).

#### 1.4.1 Технология производства биочара из Мискантуса

Распространенной технологией преобразования биомассы Мискантуса в биочар является газификация, при которой биомассу сжигают в присутствии небольшого количества воздуха для получения синтетического горючего газа (сингаз) в качестве основного и биочара в качестве побочных продуктов [173,174]. Некоторые модифицированные процессы пиролиза, такие как вакуумный пиролиз и микроволновый пиролиз, использовались для получения электромодифицированного биочара и магнитного биочара [175]. В случае биомассы *M. × giganteus* применение газификации позволило производить сингаз и биочар, и это может быть полезно для здоровья почвы и производства биомассы растениями.

В нескольких исследованиях изучалось влияние термохимических технологических процессов на свойства биочара из Мискантуса (БМ) (Таблица 4). В частности, исследования были сосредоточены на влиянии использования технологий (пиролиза, гидротермальной карбонизации (ГТК), торрефикации) и их температурного режима и времени выдержки на площадь поверхности и физико-химические свойства БМ. Пиролиз является наиболее часто используемой технологией для получения биочара из-за его низкой стоимости. Такие технологии, как ГТК, в основном используются при производстве биомасел [176]. Для определения качества БМ обычно анализируются следующие термохимические параметры: фиксированный углерод (FC), летучие вещества (VM) и зольность (A). Согласно Wilk и Magdziarz [176, p. 1302], содержание VM непосредственно влияло на процессы горения, приводя к выхлопам. Мискантус имеет довольно высокое содержание VM, что может негативно повлиять на процесс прямого сжигания, снижая энергоэффективность с образованием вредных выхлопов. Содержание VM также может влиять на рост растений,

Таблица 4 – Характеристики производственного процесса получения биочара из соломы Мискантуса [163, р. 112614]

t, °C	Время, мин	N, %	C, %	H, %	O, %	pH (H <sub>2</sub> O)	VM, %	FC, %	Выход, %	H/C	O/C	SBET, м <sup>2</sup> г <sup>-1</sup>	A, %
Пиролиз													
400-500	10	0.40	75.6	0.40	-	-	-	-	25.9-31.2	-	-	1.4-2.0	-
350-360	15	0.31	51.4	5.8	42.6	7.4	-	-	71.5	1.39	0.60	-	-
370-400		0.61	69.0	4.9	25.8	8.7	-	-	38.5	0.84	0.28	-	-
450		0.56	72.6	4.2	22.9	9.3	-	-	31.0	0.69	0.24	-	-
750	45	0.87	77.0	-	-	-	-	-	-	0.19	0.06	279	15.0
600	60	0.55	85.1	0.55	-	-	-	-	19.8-20.2	-	-	51.0	-
Медленный пиролиз													
272	-	0.30	56.1	6.0	35.2	7.8	62.9	28.7	70.0	-	-	2.9	8.4
385-442		0.40	70.7	3.6	15.9	9.5	25.2	64.0	39.0	-	-	7.7	10.8
503-590		0.45	70.9	2.3	8.3	10.2	13.5	73.0	34.0	-	-	112	13.5
682-790		0.70	79.7	1.2	5.4	10.3	5.9	78.3	30.5	-	-	62.0	15.9
350-400	60	0.48	75.2	4.3	20.2	-	-	-	-	0.69	0.20	-	-
450-500		0.48	80.7	3.7	15.2	-	-	-	-	0.55	0.14	-	-
500-750	-	0.60	80.0	1.20	6.6	-	7.4	81.1	-	0.18	0.06	-	11.5
ГТК													
180-200	240	0.09	55.1	5.9	37.9	-	78.4	18.6	-	1.3	0.52	-	1.1
220		0.27	63.0	5.8	29.9	-	73.2	24.3	-	1.1	0.36	-	1.1
230	360	0.20	62.2	5.6	35.4	3.9	78.0	33.8	63.0	-	-	5.9	4.3
250		1.2	69.0	-	-	-	-	-	-	0.86	0.20	5.8	4.5
Торрефикация													
230 – 260	60	0.18	51.7	5.8	42.4	-	-	-	-	1.4	0.62	-	-
290		0.37	57.7	5.1	36.9	-	-	-	-	1.1	0.48	-	-

препятствуя росту корней [177]. Другие физико-химические параметры, определяющие качество биочара и его воздействие на почву, включают следующие параметры: площадь поверхности (SBET), pH и атомные отношения кислорода к углероду (O/C) и водорода к углероду (H/C). Температура пиролиза, используемая при производстве БМ, может привести к постепенной потере водорода и кислорода и обогащению углеродом по сравнению со свежей биомассой [172, p. 3794]. pH биочара может влиять на доступность питательных веществ для растений и почвенных микробов. Термохимические и физико-химические свойства биочара являются важными параметрами для прогнозирования воздействия внесения биочара на свойства почвы и рост растений. Таким образом, основная цель состоит в том, чтобы внедрить цикл по культивированию Мискантуса с нулевыми отходами, начиная с определения процессов обработки и преобразования исходного сырья Мискантуса в биочар, представить характеристики биочара и обобщить влияние БМ на процесс фиторемедиации и производства биомассы.

#### 1.4.2 Влияние биочара из Мискантуса на урожайность биомассы

Как обсуждалось в подразделе 1.3.3, внесение в почву материалов, богатых углеродом, влияет на параметры фиторемедиации и позволяет получать относительно чистую НЗБ для дальнейшего преобразования в энергию. Исследования с использованием БМ для снижения концентраций четырех ТМЭ, а именно Cd, Cu, Pb и Zn, в почве представлены на рисунке 4.

Во всех исследованиях применялись различные дозы вносимого БМ, и все они проводились в горшках. Концентрации ТМЭ в побегах *Brassica napus* L. и *Lolium multiflorum* Lam. снижались по мере увеличения дозы вносимого БМ, однако статистической значимой разницы обнаружено не было. Урожайность биомассы *B. napus* и *L. multiflorum* увеличилась на 15%, 46%, 277% и 18%, 59% и 77%, соответственно с увеличением дозы вносимого биочара [178,179]. В случае *Dactylis glomerata* L. увеличение дозы вносимого БМ, полученного при температуре выше 860°C, снижало концентрацию Zn в тканях растений, в то время как концентрации Cu и Pb увеличивались [180]. Применение БМ, полученного при 700°C, привело к значительному снижению концентраций Cu и Zn в побегах *Elymus glaucus* cv. 'Elkton: этот эффект был очевиден при обработке 1% + известь и 5% + известь. Однако неожиданно, при средней дозе внесения (2.5%) биочара вкуче с известью, поглощение Cu и Zn органами растения увеличилось [181]. Janus et al. [182] оценивали влияние БМ, выращенного в почве, загрязненной Cd, Pb и Zn. Для получения биочара использовалось четыре режима пиролиза (400°C/45 мин; 400°C/90 мин; 600°C/45 мин; 600°C/90 мин). Полученные разные БМ вносили в качестве почвенной добавки в дозе 2% в загрязненную почву. Результаты показали, что биочар не изменил фитодоступность ТМЭ для *Lolium multiflorum* Lam.; однако культивирование этого растения изменило биологическую доступность ТМЭ, в особенности в присутствии БМ, изготовленного при 600°C. Результаты показали, что внесение БМ, полученного при 600°C, значительно снизило содержание ТМЭ (Cd, Pb и Zn) в тканях растений. Применение БМ, полученного при более высоких

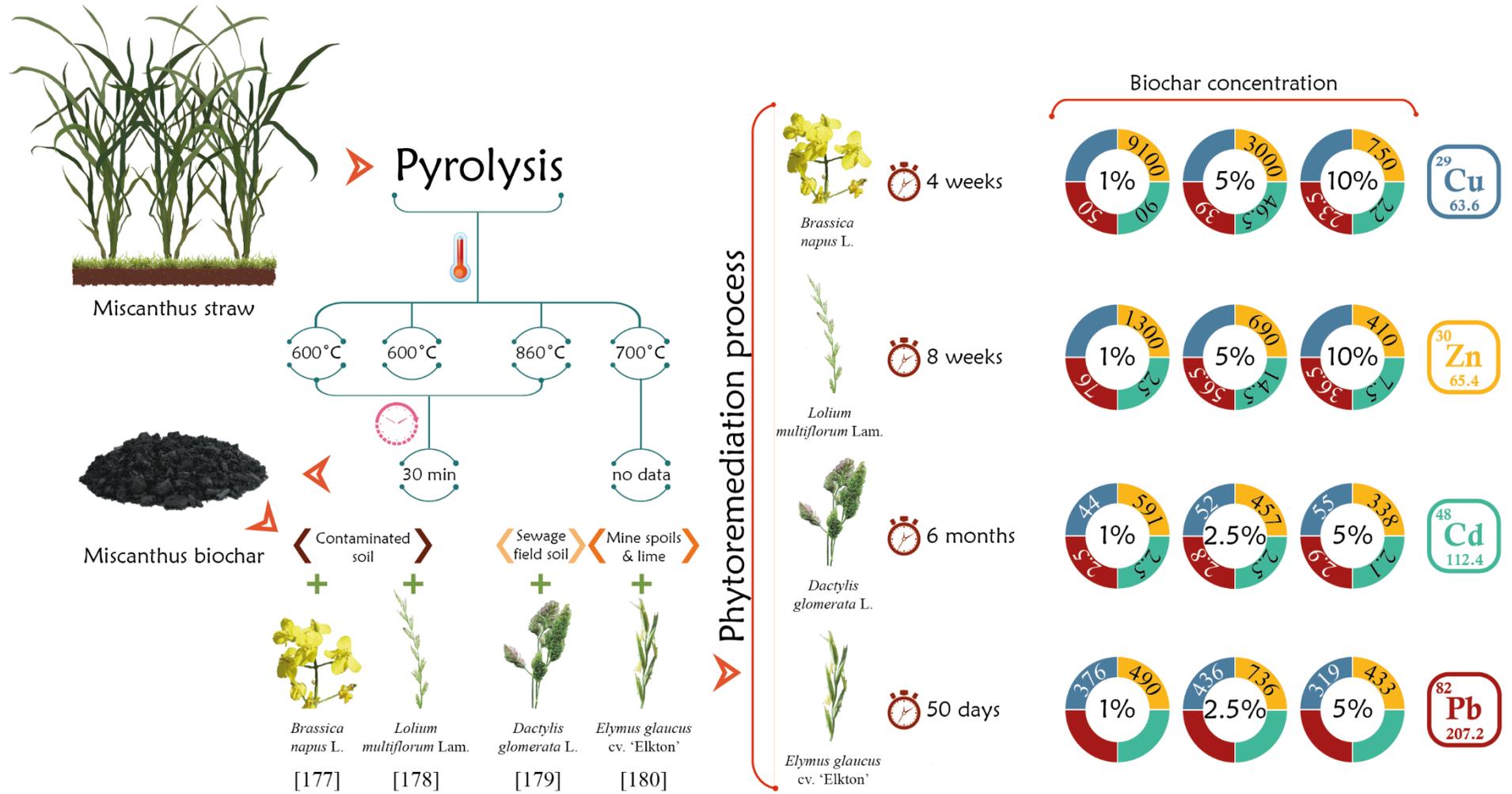


Рисунок 4 – Влияние биочара из Мискантуса на фиторемедиацию почвы, загрязненной ТМЭ [163, р. 5]

температурах пиролиза, оказало некоторое влияние на снижение поглощения ТМЭ, но не статистически достоверное. Внесение БМ, полученного при температуре 500°C, в почву, загрязненную Ni, привело к увеличению биомассы *Spinacia oleracea*. При пяти различных дозах вносимого биочара в диапазоне от 1% до 5% после 60 дней культивирования было обнаружено следующее увеличение: на 26%, 46%, 81%, 72%, и 78%, соответственно [159, p. 150].

#### 1.4.3 Сравнительный анализ биочара из Мискантуса с биочарами, произведенными из другого сырья

Биочар, полученный из пшеницы, имел более высокие показатели SBET, pH, содержания питательных веществ (N, P и K), а также содержания Cd, Ni и Zn в сравнении с БМ, однако последний обладал большим объемом пор [183]. Биочар из сосны и ивы, полученный при 500°C в течение 10 мин пиролиза, обладал более высоким содержанием углерода в отличие от БМ, в то время как SBET БМ был выше чем у биочара из ивы [184]. В другом исследовании сообщалось, что БМ имеет более высокие значения pH и содержание K, однако более низкое содержание общего C и P, чем биочар, полученный из ивы [185]. Согласно Budai et al. [172], SBET БМ по сравнению с биочаром, полученным из кукурузного початка (corncob), резко возрос при повышении температуры пиролиза и оставался относительно высоким даже после резкого снижения при высокой температуре (Рисунок 5). Авторы подчеркнули, что зольность БМ была выше по сравнению с corncob, в то время как значение pH было ниже. Однако по мере повышения температуры пиролиза (>500°C) pH БМ начал превышать pH corncob. Содержание углерода и атомные соотношения БМ, изготовленного с помощью пиролиза (750°C) и ГТК (200°C и 250°C), были выше, чем у биочара, полученного из дигестата кукурузы или щепы тополя и ивы, изготовленного с использованием тех же технологических режимов [186].

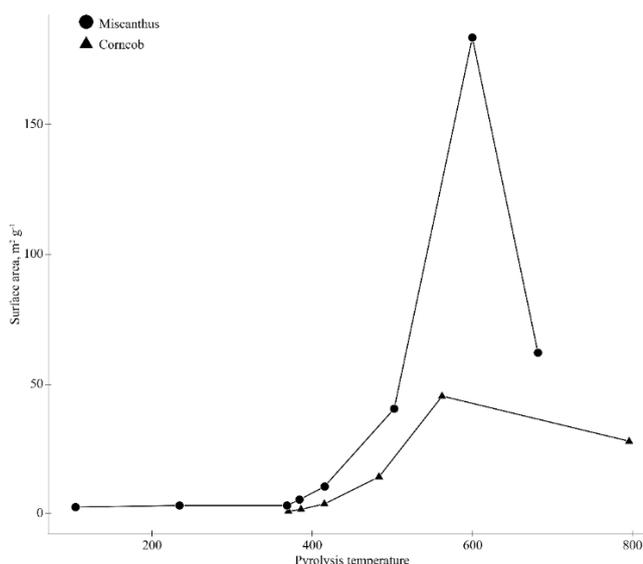


Рисунок 5 - Влияние температуры пиролиза на SBET БМ и corncob [172, p. 3796]

## 1.5 Резюме литературного обзора

Ключевой идеей Стратегии “Казахстан-2020” является зеленая экономика и окружающая среда. Однако экологическая оценка почв в Казахстане отражает многочисленные очаги загрязнения различного происхождения. Существует два основных источника загрязнения почвы ТМЭ и ХОП: промышленная деятельность и историческое наследие СССР в виде захоронений пестицидов и разрушенных складов, которые выделяли токсичные соединения, включая СОЗ, в окружающую среду в течение 30 лет. Люди, живущие вблизи очагов загрязнения, постоянно подвергаются воздействию токсичных соединений, что увеличивает риск их здоровью. Вышеуказанные источники приводят к очагам стойкого загрязнения, наблюдаемым сегодня и отображенным на рисунке 1: на 2008 г. было зарегистрировано 10 000 т запрещенных пестицидов и их смесей неизвестного состава; на 2012 г. было зарегистрировано 602 склада пестицидов; и на 2020 г. были зарегистрированы очаги загрязнения ТМЭ, в частности, вблизи металлургических заводов. Таким образом, проблемы, связанные с экологическим состоянием Казахстана, остались нерешенными.

Таким образом, наличие очагов загрязнения требует разработки и внедрения технологий для восстановления загрязненных экологических матриц, в нашем случае почвы. В настоящее время фиторемедиация является многообещающей технологией, которая гармонично взаимодействует с экосистемой. Преимуществом данной технологии является отсутствие необходимости дорогостоящего оборудования и возможность извлечения широкого спектра загрязнителей, включая СОЗ, из матриц окружающей среды. Применение биоэнергетических растений в процессе фиторемедиации набирает популярность в связи со стратегией биоэкономики, которая основана на поиске альтернативного сырья, которое может быть преобразовано в энергетические продукты для достижения устойчивого развития [187]. Правильный выбор растения играет решающую роль в развитии фиторемедиации. Следовательно, выбор энергетических культур, оптимизация условий фиторемедиации для восстановления загрязненных почв и разработка методов утилизации загрязненной биомассы являются основными целями исследования.

Энергетические культуры второго поколения, которые могут быть использованы в фитотехнологии, должны обладать следующими свойствами: а) устойчивость к широкому спектру климатических условий; б) высокая урожайность биомассы; в) высокое содержание лигнина, целлюлозы и лигноцеллюлозы; и г) способность не только расти на загрязненных почвах, но также поглощать и накапливать загрязняющие вещества. В рамках вышеперечисленных требований, *M. × giganteus* и *M. sinensis* являются перспективными кандидатами для восстановления почв, загрязненных ТМЭ и ХОП. Сообщалось, что Мискантус имеет наибольшую урожайность среди известных энергетических культур, которые могут быть переработаны в биотопливо, волокна, бетонные изделия и строительные материалы.

Утилизация биомассы является заключительным этапом цикла «zero-waste» в процессе фиторемедиации. Этот подход очень перспективен для производства биочара из Мискантуса. В нескольких исследованиях сообщалось, что рН, SBET

и пористость биочара, полученного из соломы Мискантуса, являются важными свойствами, определяющими его воздействие на почву. Эти факторы напрямую коррелируют с температурой пиролиза, т.е. чем выше температура, тем выше значения вышеуказанных свойств; однако очень высокие температуры ( $> 700^{\circ}\text{C}$ ) приводят к снижению SBET. Следовательно, эффективный БМ для применения в фиторемедиации должен быть получен путем пиролиза при температуре около  $600^{\circ}\text{C}$  со временем выдержки от 30 мин до 1 часа.

## 2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Объекты исследования

#### 2.1.1 Почвы, использованные для исследования

В экспериментах использовались три почвы: первая почва (Почва 1) была отобрана на загрязненном участке вокруг разрушенного склада пестицидов; вторая почва была куплена на обычном садовом рынке (Почва 2); а третья почва (Почва 3) была отобрана на месте добычи бурого угля. Отбор почв проводился в соответствии со стандартом [188]: с квадрата размером  $5 \times 5$  м было взято 5 образцов на глубине 0-0.6 м согласно методу конверта. Затем образцы почвы просеивали (размер пор 3 мм) для удаления растительных материалов и камней, тщательно гомогенизировали, высушивали на воздухе и хранили при  $4^{\circ}\text{C}$  и  $15^{\circ}\text{C}$ , соответственно, до завершения эксперимента. Затем образцы почвы были использованы для проведения агрохимического анализа, а также в постановки экспериментов в горшках.

Почва 1 - это исторически загрязненная ХОП почва, отобранная вокруг бывшего склада устаревших пестицидов, расположенного в поселке Кызылкайрат (GPS  $43^{\circ}17'58.7''\text{N}$   $77^{\circ}11'39.6''\text{E}$ ) Талгарского района Алматинской области, Республика Казахстан (Рисунки 6, 7). Согласно официальным данным Территориальной администрации Талгарского района, до 1980-х гг. на складе хранился линдан ( $\gamma$ -ГХЦГ). Для экспериментов по оценке фиторемедиационного потенциала энергетических растений было отобрано 100 кг почвы.

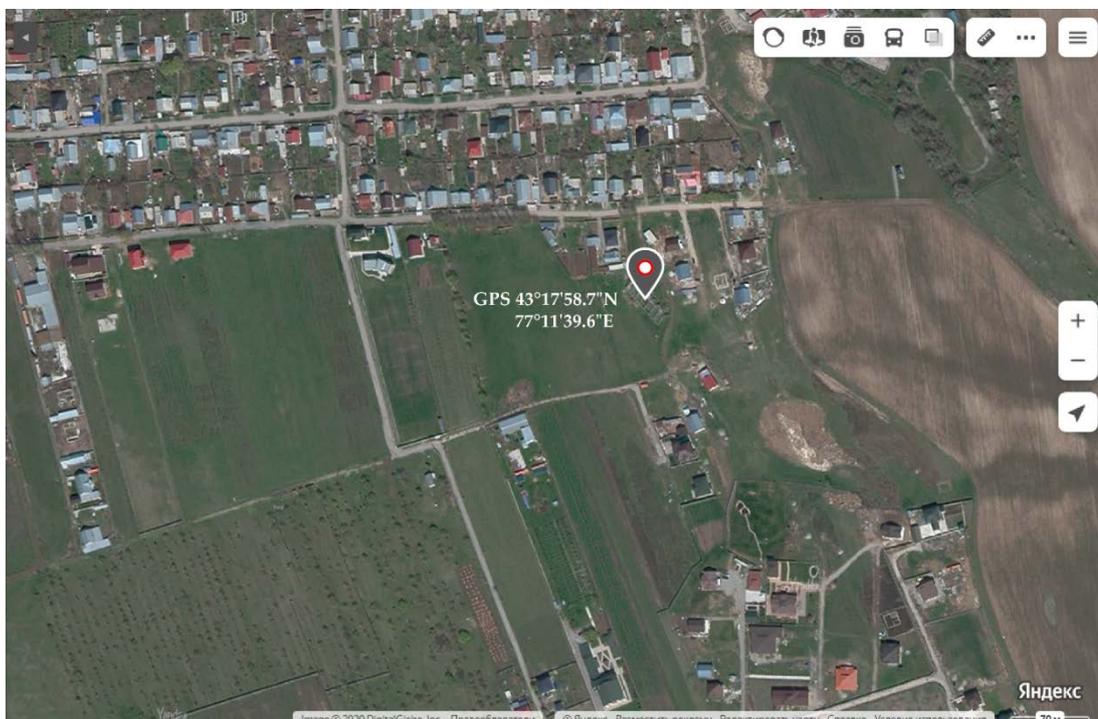


Рисунок 6 - Карта расположения склада в поселке Кызылкайрат



Рисунок 7 – Состояние бывшего склада устаревших пестицидов, расположенного в п. Кызылкайрат, на 11 апреля 2019 г.

Согласно Всемирной справочной базе классификации почвенных ресурсов, почва 1 относится к черноземам с плотностью  $1.44 \text{ г см}^3$  на глубине 35-55 см [189]. Агрохимические свойства экспериментальных почв определяли стандартными методами: органическое вещество (С) - по методу Тюрина [190]; подвижные формы фосфора ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) и калия ( $\text{K}_2\text{O}$ ) - по методу Кирсанова в модификации ЦИНАО [191]; поглощенные основания натрия (Na) и калия (K) - по методу Антипова-Каратаева и Маметова в модификации Грабарова; поглощенные основания кальция (Ca) и магния (Mg) – по методу Аринушкина в модификации Грабарова; и pH почвы – в соответствии с ГОСТ 26423-85 [192]. Агрохимический профиль почвы, загрязненной ХОП, показал достаточно высокие концентрации доступных P и K (Таблица 5). pH загрязненной почвы составляет 7.85, таким образом, почва является слабощелочной. Содержание азота в загрязненной почве было очень низким ( $96.6 \text{ мг кг}^{-1}$ ).

Таблица 5 – Агрохимический профиль трех исследуемых почв

Агрохимический показатель	Единица измерения	Почва 1, $\pm$ SD	Почва 2, $\pm$ SD	Почва 3
Органическое вещество, С	%	$6.10 \pm 0.02$	$34.0 \pm 1.5$	3.4
pH ( $\text{H}_2\text{O}$ )	-	$7.85 \pm 0.02$	$7.3 \pm 0.1$	5.0
N	$\text{мг кг}^{-1}$	$96.6 \pm 7.0$	$432.3 \pm 5.3$	108
$\text{P}_2\text{O}_5$	$\text{мг кг}^{-1}$	$400 \pm 5$	$230 \pm 10$	50
$\text{K}_2\text{O}$	$\text{мг кг}^{-1}$	$885 \pm 25$	$440 \pm 40$	600
Ca	мЭкв/100 г	$20.8 \pm 0.7$	$58.3 \pm 2.5$	16
Mg	мЭкв/100 г	$2.70 \pm 1.23$	$6.4 \pm 2.5$	2.3

Почва 2 представляет собой почвенную смесь из торфа, песка, известняковой муки и комплексного минерального удобрения. Его агрохимические свойства приведены в таблице 5.

Почва 3 - это загрязненная ТМЭ почва, отобранная на месте добычи бурого угля, которое было в эксплуатации в 1958-1980 гг., а в настоящее время используется в качестве свалки. Участок расположен в Všebořice, Усти-над-Лабем, Чешская Республика (GPS 50°42'11.9"N 13°58'32.1"E). Для эксперимента почва была искусственно загрязнена Pb (в двух концентрациях) с целью изучения влияния инокуляции RGPB на продуктивность биомассы и фиторемедиационный потенциал Мискантуса. Загрязнение почвы проводили с использованием раствора  $Pb(NO_3)_2$  ( $\geq 99\%$ , класс ACS, Roth chemicals, Германия) в концентрациях 273.7 и 2033.3 мг  $kg^{-1}$ . Требуемые растворы  $Pb(NO_3)_2$  готовили с использованием дистиллированной воды и смешивали их с 2 кг почвы (отдельно для каждого горшка). Агрохимические свойства экспериментальных почв определяли стандартными методами: органическое вещество (C) - по методу Тюрина [193]; азот - по методу Корнфилда [194]; подвижные формы фосфора и калия - по методу Чирикова [195]; подвижные формы кальция и магния - по методу ЦИНАО [196]; pH (KCl) - в соответствии с ДСТУ 8346:2015 [197]. Агрохимический профиль почвы свидетельствует о низком содержании органического вещества и азота (таблица 5).

#### 2.1.2 Биологическое описание *Miscanthus sinensis* And.

*M. sinensis* - многолетнее инвазивное  $C_4$  энергетическое растение (Рисунок 3). Растение высокопродуктивно (урожай биомассы достигает 36.6 т DM  $га^{-1}$  в год), устойчиво к морозам и обладает способностью восстанавливать почвы, загрязненные CO<sub>2</sub>. Трава выдерживает температурный диапазон от -2°C до +32°C. Высота растения обычно колеблется от 0.8 до 2 м, но при благоприятных условиях может достигать 4 м. ННВ колеблется от 16.0 до 19.2 МДж  $kg^{-1}$ . В настоящее время растение активно рассматривается как новый источник целлюлозы.

#### 2.1.3 Биологическое описание *Miscanthus × giganteus* Greef et Deu

*M. × giganteus* - это многолетнее неинвазивное  $C_4$  энергетическое растение, гибрид *M. sinensis* и *M. sacchariflorus* (Рисунок 3). Растение хорошо переносит низкие температуры (до -6°C), засуху и нуждается не менее чем в 150-300 мм осадков в год. Высота растения может достигать 4 м при урожайности биомассы 15-29 т DM  $га^{-1}$  в год (Таблица 3). ННВ колеблется от 16.5 до 20.2 МДж  $kg^{-1}$ , что приблизительно в два раза выше значения теплотворной способности ивы.

#### 2.1.4 Органические и неорганические почвенные добавки

Tween 20 является неионным поверхностно-активным веществом, способным повышать гидрофильность/снижать гидрофобность органических загрязнителей и стимулировать рост растений. ПАВ было приобретено в Sigma Aldrich. Название согласно IUPAC классификации - монолаурат сорбитана полиоксиэтилена (20). Химическая формула -  $C_{58}H_{114}O_{26}$ , молекулярная масса -

1227.56 г моль<sup>-1</sup>, критическая концентрация мицелл -  $8.04 \times 10^{-5}$  М при 21°C, плотность – 1.1 г мл<sup>-1</sup>.

Активированный уголь (АУ) - это уголь с высокой сорбционной способностью благодаря химической структуре, высокой пористости и большому SBET [132]. АУ может стабилизировать органические загрязнители *in situ* в почвах [130]. Производителем исследуемого АУ (в форме таблеток) является Химико-Фармацевтический Завод "Ирбит", Россия. Одна таблетка содержит 0.25 г АУ и 0.047 г вспомогательного вещества - картофельного крахмала.

*Bacillus altitudinis* КР-14 (*B. altitudinis* КР-14) - это бактерия, стимулирующая рост растений (PGPB), выделенная из почвы Všebořice [198]. Штамм КР-14 продемонстрировал наилучшие показатели стимулирующих рост растений (PGP) свойств и устойчивости к абиотическим факторам: обладает толерантностью к соли (от 0 до 20% NaCl), температуре (от 4°C до 50°C в течение 48-96 ч) и рН (в диапазоне от 4 до 12); устойчив к высоким концентрациям Pb (от 100 до 1500 мг кг<sup>-1</sup> Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); солубилизует фосфатов (P); и продуцирует индолуксусную кислоту (ИУК), сидерофоры, цианистый водород (HCN) и аммиак (Рисунок 8).

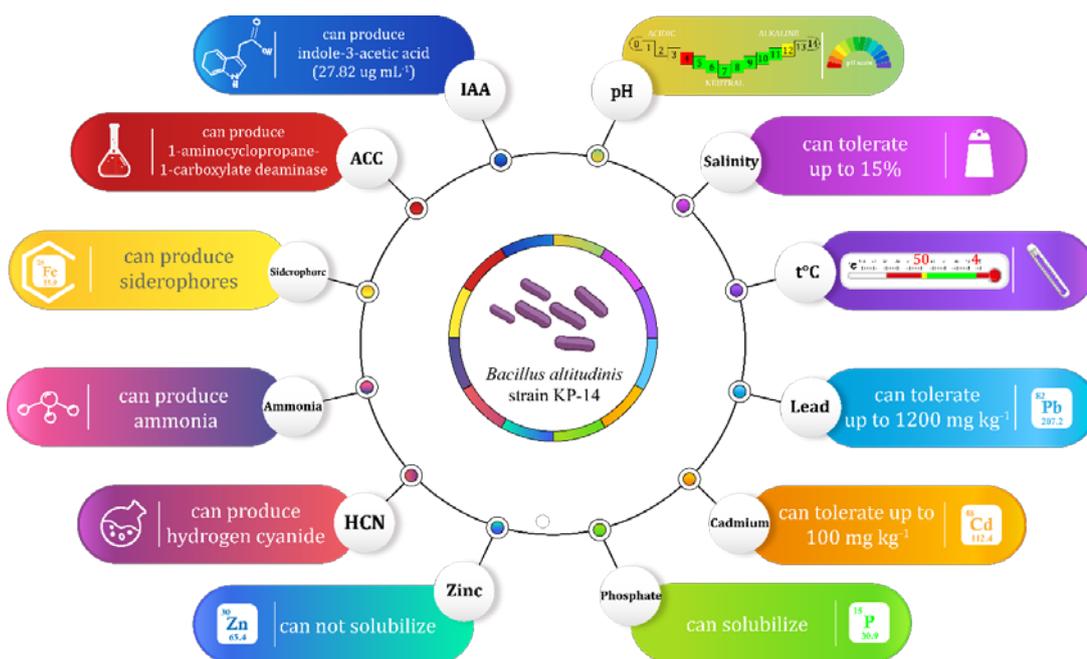


Рисунок 8 – Профиль PGP свойств и толерантности к абиотическому стрессу *B. altitudinis* КР-14 [89, p. 105106]

## 2.2 Методы исследования

### 2.2.1 Дизайн эксперимента по изучению фиторемедиационного потенциала *M. sinensis* при загрязнении почвы ХОП

Эксперимент в горшках проводился в лабораторных условиях. Корневища *M. sinensis* были высажены в незагрязненную почву в декабре 2018 г. для

получения саженцев. Через три месяца (в марте 2019 г.) побеги *M. sinensis* со средней высотой  $16.4 \pm 0.3$  см были высажены в контрольную (почва 2) и загрязненную ХОП (почва 1) почвы с/без внесения почвенных добавок, АУ и Tween 20 (Рисунок 9).



Рисунок 9 – Постановка опыта по изучению фиторемедиационного потенциала *M. sinensis*, культивируемого в почве, загрязненной ХОП

Почву 1, загрязненную ХОП, тщательно смешивали либо с 1% водным раствором Tween 20, либо с 10% суспензией АУ. Для приготовления 1% раствора Tween 20, 25 мл Tween 20 тщательно смешивали с 2 475 мл дистиллированной воды ( $dH_2O$ ). В случае 10% суспензии АУ, 100 таблеток (по 0.25 г каждая) измельчали с помощью пестика и ступки с последующим смешиванием и гомогенизацией в 2 500 мл теплой  $dH_2O$ . Затем дно горшков засыпали 1 кг дренажа (керамзит), следующим слоем насыпали 1 кг песка. После этого каждый горшок был наполнен 5 кг почвы (контрольной или загрязненной ХОП). Для предотвращения пересыхания почвы, ее посыпали песком. Побеги *M. sinensis* были высажены в 12 горшков. Контрольной обработкой являлись горшки, наполненные почвой 2. Каждый вариант опыта был воспроизведен в трех повторностях.

Эксперимент длился 6 месяцев, такие физиологические параметры, как высота растений, количество листьев, длина и ширина листовых пластины, измерялись ежемесячно. Влажность почвы доводили до 50% путем полива каждые 3 дня. Перед сбором биомассы, финальная высота растений была измерена. Образцы почвы из каждого горшка просеивали через сито диаметром 2 мм и отбирали в промаркированные пластиковые ZIP пакеты. Корни растений тщательно промывали под проточной водой, чтобы избавиться от мелких частиц почвы. Затем образцы НЗБ и корней растений сушили в сушильном шкафу при температуре  $105^{\circ}C$  до постоянного веса, после чего сухой вес (DM) растений был определен. НЗБ и корни растений измельчались в аналитической мельнице ИКА

A11 basic, затем отбирались образцы растений из разных вариантов опыта весом 10 г для химического анализа.

### 2.2.2 Дизайн эксперимента по изучению фиторемедиационного потенциала *M. × giganteus* при загрязнении почвы ТМЭ

В эксперименте использовались корневища, полученные с поля, где произрастал трехлетний *M. × giganteus*, (остров Святой Елены, Хорватия). Бактеризацию корневищ выбранным изолятом проводили перед посадкой. Для этой цели корневища погружали на 1 час в бактериальную суспензию ( $10^7$  КОЕ  $\text{мл}^{-1}$ ) с 1% карбоксиметилцеллюлозой, тогда как для контрольного варианта корневища погружали в  $\text{dH}_2\text{O}$  с той же временной выдержкой.

Эксперимент в горшках проводился в тепличных условиях с тремя видами почвы: а) исходная почва из Všebořice, загрязненная различными ТМЭ; б) исходная почва из Všebořice, искусственно загрязненная раствором  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  в первой концентрации; в) исходная почва из Všebořice, искусственно загрязненная раствором  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  во второй концентрации. Подробная информация об обработке почв и вариантах бактеризации приведена в таблице 6.

Масса почвы в каждом горшке составляла 2 кг. Горшок имел следующие параметры: диаметр верха 30 см, дна 20 см и высота 25 см. Каждый вариант опыта был воспроизведен в четырех повторностях. В каждый горшок было посажено одно корневище *M. × giganteus* с двумя почками, средний размер составлял 10 см. Эксперимент был поставлен 9 мая 2019 г. и завершен 30 ноября 2019 г. Продолжительность вегетационного периода составила 206 дней.

Таблица 6 – Варианты опыта

Концентрация Pb в почве, $\text{мг кг}^{-1}$	Без инокуляции, “почва-растение”	С инокуляцией, “почва-растение-микроорганизм”
$42.6 \pm 3.3$	ПР1	ПРМ1
$273.7 \pm 20.5$	ПР2	ПРМ2
$2033.3 \pm 64.8$	ПР3	ПРМ3

Примечание: ПР – «почва – растение»; ПРМ – «почва – растение – микроорганизм».

Сбор урожая производился, когда растения пожелтели. Перед сбором урожая была замерена финальная высота растений. Образцы почвы, отобранные из каждого горшка, были просеяны (диаметр пор = 2 мм) и помещены в промаркированные пластиковые ZIP пакеты. Корни растений тщательно промывали под проточной водой, чтобы избавиться от мелких частиц почвы, а затем сушили при комнатной температуре до постоянного веса. Длину корней измеряли после полного высыхания. Листья, стебли и корни взвешивали для получения веса сухой биомассы и помещали отдельно в маркированные пластиковые ZIP пакеты. Образцы (листья, стебли, корни и почва) хранили при комнатной температуре до химического анализа.

### 2.2.3 Определение содержания хлорофилла

Концентрации хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов (*Car*) в листьях *M. sinensis* определяли по окончании вегетационного периода по методу Гавриленко [199]. Согласно данному методу, 30 г свежих листьев измельчали с использованием 90% спиртового раствора; затем гомогенат переносили в микроцентрифужные пробирки и центрифугировали при 7 000 об мин<sup>-1</sup> в течение 10 мин. Экстракт выливали в пробирку и определяли поглощение фотосинтетических пигментов на спектрофотометре PD-303 (APEL, Япония) при 440.5, 649 и 665 нм. Концентрации хлорофилла *a* и *b* (*Chl<sub>a</sub>* и *Chl<sub>b</sub>*) рассчитывали по следующим уравнениям:

$$Chl_a (\text{мг Л}^{-1}) = 11.63 \times D_{665} - 2.39 \times D_{649} \quad (1)$$

$$Chl_b (\text{мг Л}^{-1}) = 20.11 \times D_{649} - 5.18 \times D_{665} \quad (2)$$

$$Chl_{a+b} (\text{мг Л}^{-1}) = 6.45 \times D_{665} + 17.72 \times D_{649} \quad (3)$$

Концентрацию каротиноидов рассчитывали по формуле:

$$C_{car} (\text{мг Л}^{-1}) = 4.695 \times D_{440.5} - 0.268 \times (C_a + C_b) \quad (4)$$

### 2.2.4 Химический анализ

Концентрации ХОП в почве, НЗБ и корнях *M. sinensis* измеряли с помощью газового хроматографа с детектором захвата электронов (газовый хроматограф Agilent Technologies 6890N), оснащенного автосамплером Combi-PAL (СТС Analytix AG, Швейцария), в соответствии с СТ РК 2131-2011 [200] для образцов почв и СТ РК 2011-2010 [201] для образцов растительного происхождения. Для экстрагирования ХОП, 10 г образца помещали в колбу объемом 200 мл с пробкой, добавляли 20 мл н-гексана и встряхивали полученную смесь в течение 24 ч. Объем полученного экстракта измеряли и концентрировали до 1 мл. Экстракт помещали в коническую колбу объемом 50 мл, добавляли 5-10 мл н-гексана, затем перемешивали в течение 30 мин в миксере. Полученный экстракт фильтровали через фильтровальную бумагу, измеряли и концентрировали до 1 мл. 1 мкл финального экстракта вводили с помощью автосамплера, нагретого до 250°C. Для разделения использовали капиллярную колонку DB-35MS (Agilent, США) длиной 30 м, внутренним диаметром 0.25 мм и толщиной пленки 0.25 мм. Газ-носитель (гелий марки "А") подавался непрерывным потоком со скоростью 1.0 мл мин<sup>-1</sup> (средняя линейная скорость потока: 36 см с<sup>-1</sup>). Температура колонки термостата была запрограммирована от 40°C (время выдержки: 1 мин) до 160°C (время выдержки: 3 мин) при скорости нагрева 20°C мин<sup>-1</sup> с последующим нагревом до 250°C (время выдержки: 5 мин) при скорости нагрева 3°C мин<sup>-1</sup>. Детекция осуществлялась детектором захвата электронов. Для количественного определения ХОП были получены калибровочные графики в диапазоне концентраций от 1 до 500 нг Л<sup>-1</sup>. Результаты хроматографии обрабатывали с использованием программного обеспечения MSD ChemStation E.02.02 SP1.

Определение концентраций ТМЭ в почве, корнях, стеблях и листьях обеспечивалось X-Ray флуориметром Elvax Light SDD. Тщательно гомогенизированный образец почвы был помещен на чистую бумагу в форме квадрата и разделен на четыре равные части. Две противоположные части удаляли, а две другие смешивали и использовали для дальнейшего проведения анализа, предварительно снова просеивая (0.1 мм) в количестве  $50.0 \pm 0.5$  г. Описанную выше процедуру применяли вновь до получения образца почвы равной  $4.00 \pm 0.01$  г. Тот же метод X-Ray флуоресценции использовался для определения концентраций ТМЭ в биомассе растения. Образцы корней, стеблей и листьев тщательно очищали  $dH_2O$ , сушили на открытом воздухе, затем при  $105^\circ C$ , охлаждали в эксикаторах в течение 1 часа и взвешивали. Высушенные образцы сжигали при  $400^\circ C$  в течение 4 ч, охлаждали в эксикаторах 1 час и взвешивали.

### 2.2.5 Расчет коэффициентов фиторемедиации

Индекс толерантности (ТИ) - это соотношение между параметрами роста растений (высотой и сухой массой НЗБ и корней растения) в загрязненной почве к соответствующим параметрами роста в незагрязненной почве, рассчитанное по следующему уравнению [202,203]:

$$TI = \frac{[\text{Параметр роста растения}] \text{ в загрязненной почве}}{[\text{Параметр роста растения}] \text{ в контрольной почве}} \quad (5)$$

Поглощение загрязняющих веществ растениями из почвы оценивали с помощью коэффициента биоконцентрации (BCF) согласно Zayed et al. [204], т.е. по отношению концентрации загрязняющего вещества в тканях растений к его концентрации в почве.

$$BCF = \frac{\text{Концентрация поллютанта в тканях растения}}{\text{Концентрация (первичная) поллютанта в почве}} \quad (6)$$

Перенос загрязняющих веществ внутри растения оценивался с помощью коэффициента транслокации (TLF) согласно Yanqun et al. [205], т.е. по отношению концентрации загрязняющего вещества в НЗБ (листья и стебли) к его концентрации в корневой системе растения.

$$TLF = \frac{\text{Концентрация поллютанта в НЗБ растения}}{\text{Концентрация поллютанта в корнях}} \quad (7)$$

Накопление загрязняющих веществ в тканях растения было выражено в виде индекса поглощения (UI) согласно Chorom et al. [206]:

$$UI = \text{Концентрация поллютанта} \times \text{Сухой вес растения} \quad (8)$$

### 2.2.6 Пиролиз. Производство биочара из биомассы Мискантуса

Пиролиз является наиболее распространенным недорогим процессом, используемым при производстве биоугля мискантуса (Таблица 4). Он заключается в нагревании органических материалов в отсутствие кислорода с получением различных биопродуктов, в том числе биочара [174, р. 7]. Как правило, пиролиз биомассы осуществляется при различных температурах от 350 до 700°C, и произведенные биочары оказывают различное воздействие на почву [170, р. 433]. Существует три типа пиролиза, используемых для производства биочара: мгновенный, быстрый и медленный. Мгновенный и быстрый пиролиз - это высокоэффективные термохимические процессы, осуществляемые при температурах выше 800°C со скоростью нагрева более 500°C мин<sup>-1</sup> и выше 500°C со скоростью нагрева более 300°C мин<sup>-1</sup>, соответственно, в отсутствие кислорода [173, р. 195, 175, р. 1315]. При медленном пиролизе, который является более традиционным процессом, биомассу нагревают при температуре от 300 до 600°C со скоростью нагрева 5-7°C мин<sup>-1</sup>. Основным продуктом мгновенного и быстрого пиролиза является биомасло с сопутствующим выходом около 12% и 20% биочара, соответственно, в то время как основным продуктом медленного пиролиза является биочар [173]. Медленный пиролиз является наиболее распространенной технологией, используемой для получения БМ: во многих исследованиях БМ получают при температуре пиролиза от 400 до 600°C с высоким временем выдержки и низкой скоростью нагрева. Свойства биочара, полученного мгновенным или быстрым и медленным пиролизами, демонстрируют различия, так как при медленном пиролизе образуется больше угля. По сравнению с другими производственными процессами, такими как ГТК, БМ, полученный с помощью медленного пиролиза, имеет самые высокие SBET и зольность [172, р. 3794]. Производство биочара путем пиролиза при очень высоких температурах (>700°C) приводит к снижению SBET. Следовательно, БМ, эффективный для применения в фиторемедиации, должен быть получен путем пиролиза при температуре около 600°C со временем выдержки приблизительно от 30 мин до 1 часа [163, р. 112619].

Для изготовления биочара использовались четыре вида исходного сырья: отходы биомассы (листья и стебли), листья и корневища *M. × giganteus*, выращенные на маргинальной земле (Хомутов, Чешская Республика), и загрязненные корневища *M. × giganteus*, произрастающего на почве из места добычи бурого угля (Všebořice, Усти-над-Лабем, Чешская Республика) в присутствии RGPB.

Биочары были изготовлены в лабораторном подразделении Технического университета Остравы, Институте экологических технологий (Острава-Поруба, Чешская Республика), состоящем из реактора с неподвижным слоем с внешним подогревом (длина 30 см и внутренний диаметр 5.5 см) [207], помещенного в трубчатую печь LT 50/300/13 (LAC, Чешская Республика) и инертизированного с помощью азота в начале каждого эксперимента. Основываясь на предварительных исследованиях, было доказано, что наиболее подходящей температурой пиролиза является 600°C со скоростью нагрева 5°C мин<sup>-1</sup> и временем выдержки 2 часа.

Производственный цикл был следующим: производство биочара из корневищ - как правило, сразу после извлечения из почвы влажность корневищ варьируется в пределах 80-90 wt.%. После доставки в институт содержание влаги было измерено и составило ~55 wt.%, что было обусловлено не столько влажностью самих корневищ, но и влажностью почвы, прилипшей к корням растения. Потому сначала необходимо было их почистить. Корневища после извлечения из земли очищали установкой для мытья под давлением и сушили на воздухе в течение 21 дня; биочар из отходов биомассы - этот тип материала обычно не требует очистки под высоким давлением, а также при идеальном сборе и хранении обладает минимальной влажностью.

Предварительный анализ биочара был проведен в соответствии со стандартной процедурой Американского общества испытаний и материалов ([www.astm.org](http://www.astm.org)). LECO TGA701 использовался для определения содержания влаги (W), летучих веществ (VM), фиксированного углерода (FC) и зольности (A) в соответствии с ASTM D1762-84 [208]. Содержание углерода (C), азота (N), водорода (H) и серы (S) измеряли с помощью элементного анализатора LECO CHSN628 в соответствии с ASTM D5373-21 [209]. Массу кислорода (O) рассчитывали по разности (т.е.  $O = 100 - C - H - N - S - A$  [%]). Образцы биочара также были подвергнуты определению высокой теплотворной способности (HHV). Для этой цели использовался бомбовый полуавтоматический изопериболичный калориметр LECO AC600 (США) и соблюдался стандарт ASTM E711-87 [210]. Баланс массы оценивался путем взвешивания отдельных продуктов. Выход биочара в случае загрязненных корневищ составил 34 wt.%. При пиролизе НЗБ был достигнут несколько меньший выход, а именно 30 wt.%. Приблизительный и окончательный анализы обработанных материалов представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Физико-химические характеристики сырья Мискантуса

Исходное сырье	W, wt.%	VM, wt.%	FC, wt.%	A, wt.%	HHV, МДж кг <sup>-1</sup>
Корневища	6.25 ± 0.03	76.85 ± 0.28	19.95 ± 0.32	3.20 ± 0.04	18.91 ± 0.10
Загрязненные корневища	15.28 ± 0.02	74.54 ± 0.51	20.62 ± 0.40	4.84 ± 0.07	20.96 ± 0.02
Отходы НЗБ	5.05 ± 0.02	77.21 ± 0.08	18.80 ± 0.23	3.99 ± 0.10	19.20 ± 0.50
Листья	6.10 ± 0.03	77.64 ± 0.31	15.39 ± 0.30	6.98 ± 0.02	20.23 ± 0.13
	C, wt.%	H, wt.%	N, wt.%	S, wt.%	O, wt.%
Корневища	45.97 ± 0.33	6.31 ± 0.13	0.79 ± 0.06	0.12 ± 0.03	43.61 ± 0.04
Загрязненные корневища	47.80 ± 0.09	8.03 ± 0.10	0.81 ± 0.04	0.12 ± 0.02	38.40 ± 0.02
Отходы НЗБ	47.37 ± 0.13	6.67 ± 0.02	0.45 ± 0.05	0.05 ± 0.0	41.46 ± 0.02
Листья	45.57 ± 0.08	6.83 ± 0.17	0.63 ± 0.07	0.03 ± 0.01	39.97 ± 0.03

Примечание: W - влажность, VM – летучее вещество, FC – фиксированный углерод, A – зольность, HHV – высокая теплотворная способность.

Качество биочаров, которые планируется использовать в качестве почвенной добавки, было проверено в соответствии с требованиями Международной инициативы по биочарам (МИБ) [211]. Согласно МИБ,

основными характеристиками биочара являются: такие физические свойства как размер частиц и влажность; химические свойства как пропорций элементов, зольность, электропроводность (ЕС) и рН. Биочары должны соответствовать пороговым значениям для оценки токсичности почвы. Характеристики расширенного анализа биочара включают содержание VM и SBET.

#### 2.2.7 Статистический анализ

Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения RStudio (версия 1.3.959, R Studio PBC, 2020). Данные представлены в виде линейных диаграмм, столбцов и боксплотов со средним значением  $\pm$  стандартное отклонение. Данные о морфологических и физиологических параметрах растений (высота, сухой вес биомассы и содержание хлорофилла) оценивались с помощью Two-Way ANOVA с последующим попарным сравнением достоверных различий по Tukey Honestly Significant Difference. Для определения статистической разницы концентраций загрязняющих веществ в тканях растений также использовался Two-Way ANOVA. Тесты Tukey HSD были выполнены для попарного сравнения средних значений, когда ANOVA выявляла статистически значимое влияние тестируемых факторов. Затем вариантам была присвоена буквенная классификация в убывающей градации, и были созданы диаграммы/графики. Статистическая значимость заявлена при  $p < 0.05$ .

## 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

### 3.1 Мониторинг загрязнения почв

#### 3.1.1 Почва, загрязненная ХОП

Химический анализ почвы, отобранной рядом с бывшим складом устаревших пестицидов, на исследуемые 24 наименования ХОП, выявил чрезвычайно высокие концентрации; общая концентрация ХОП эквивалентна 145 мг кг<sup>-1</sup> (Таблица 8).

Таблица 8 – Концентрации ХОП в исторически загрязненной почве и пороговые значения для почв в соответствии со стандартами Республики Казахстан и Европейского Союза

ХОП	ПДК, мкг кг <sup>-1</sup>		Почва 1, мкг кг <sup>-1</sup>
	РК [35]	ЕС [36]	
2.4-ДДД	100	10.0	14 072 ± 5239
4.4-ДДД	100	10.0	11 434 ± 7302
4.4-ДДЭ	100	10.0	778 ± 292
4.4-ДДТ	100	10.0	10 023 ± 2471
α-ГХЦГ	100	220.0	89.2 ± 0.0
β-ГХЦГ	100	92.0	25.5 ± 16.4
γ-ГХЦГ	100	0.01	488 ± 152
δ-ГХЦГ	100	-	67.4 ± 13.7
Альдрин	2.5	7.0	230 ± 59
Гексабромбензен	30	28	201 ± 129
Гептахлор	50	0.7	214.7 ± 0.0
Гептахлор эпоксид	50	0.052	3 029 ± 1192
ГХБ	500	50.0	4.7 ± 1.9
Дибутил хлорэндат	-	-	2135 ± 478
Дикофол (Кельтан)	100	-	34.4 ± 0.0
Дильдрин	0.5	7.0	132.9 ± 51.1
Метоксихлор	1600	900.0	436 ± 281
Хлорбензилат	20	-	32 061 ± 12 669
Хлордан	100	4.3	48.1 ± 27.6
Эндосульфан α	100	0.003	23 669 ± 2 580
Эндосульфан β	100	0.003	253 ± 163
Эндосульфан сульфат	-	-	118.7 ± 76.5
Эндрин	1	2.9	44 085 ± 17 335
Эндрин альдегид	-	2.9	1 087 ± 198

Было установлено, что во всех образцах, собранных вблизи бывшего склада пестицидов, общая концентрация пестицидов в почве превышала ПДК. Самые высокие концентрации были зарегистрированы для эндрина (44.1 мг кг<sup>-1</sup>), хлорбензилата (32.1 мг кг<sup>-1</sup>), эндосульфан α (23.7 мг кг<sup>-1</sup>), 4.4-ДДТ (11.4 мг кг<sup>-1</sup>),

2.4-ДДТ (14.1 мг кг<sup>-1</sup>), 4.4-ДДТ (10 мг кг<sup>-1</sup>), гептахлор эпоксида (3 мг кг<sup>-1</sup>), дибутил хлорэндата (2.1 мг кг<sup>-1</sup>) и эндрин альдегида (1.1 мг кг<sup>-1</sup>).

Таким образом, анализ доказывает, что почва вокруг бывших складов загрязнена ХОП, концентрации которых превышают ПДК в десятки и тысячи раз и представляют угрозу для окружающей среды и здоровья человека. Такой уровень загрязнения вызывает тревогу, поскольку они могут мигрировать, загрязнять природную и питьевую воду и, таким образом, попадать в пищевую цепочку и оказывать негативное воздействие на здоровье человека.

### 3.1.2 Почва, загрязненная ТМЭ

Почва, использованная в эксперименте, содержала 8 ТМЭ (Таблица 9). Наблюдалось сильное загрязнение почвы ванадием (V) и стронцием (Sr), которые превышали ПДК в 11.7 и 59.8 раз, соответственно. Концентрации Cr, Ni и Zn незначительно превышали ПДК: в 2.7, 2.1 и 1.7 раза, соответственно. Из этих восьми ТМЭ Mn, Cu, Zn, Sr и Pb были обнаружены в тканях растений, в то время как концентрации V, Cr и Ni в тканях растений не были обнаружены или же находились ниже предела обнаружения в матрице SiO<sub>2</sub> (LOD: V – 14 мг кг<sup>-1</sup>, Cr – 7 мг кг<sup>-1</sup>, Ni – 5 мг кг<sup>-1</sup>).

Таблица 9 – Концентрации ТМЭ в искусственно загрязненной почве и пороговые значения для почв в соответствии со стандартами Республики Казахстан и Чешской Республики

ТМЭ	ПДК, мг кг <sup>-1</sup>		Варианты опыта		
	РК [59]	ЧР [212]	ПР1	ПР2	ПР3
V	-	43	502.9 ± 161.1	460.2 ± 157.3	488.3 ± 160.0
Cr	100	90	201.4 ± 68.3	208.3 ± 66.4	243.2 ± 67.2
Mn	1500	1500	492.4 ± 45.8	449.7 ± 44.7	440.1 ± 45.9
Ni	20	50	99.6 ± 17.4	104.9 ± 16.8	102.1 ± 17.2
Cu	33	60	73.5 ± 10.5	70.5 ± 9.9	68.9 ± 10.3
Zn	55	120	204.2 ± 7.1	206.3 ± 8.5	195.9 ± 8.4
Sr	-	7	418.5 ± 3.9	407.4 ± 3.9	400.7 ± 4.1
Pb	32	60	44.2 ± 3.7	293.4 ± 7.0	1969.8 ± 15.8
			ПРМ1	ПРМ2	ПРМ3
V	-	43	567.5 ± 158.4	491.6 ± 159.6	498.0 ± 164.2
Cr	100	90	237.1 ± 67.3	214.3 ± 67.8	218.7 ± 69.8
Mn	1500	1500	499.8 ± 45.4	497.3 ± 45.9	451.8 ± 46.4
Ni	20	50	106.0 ± 17.5	114.1 ± 17.5	99.7 ± 17.6
Cu	33	60	70.9 ± 10.3	64.9 ± 10.5	64.9 ± 10.8
Zn	55	120	200.3 ± 8.6	206.3 ± 8.2	202.1 ± 8.6
Sr	-	7	415.1 ± 3.9	424.5 ± 4.0	416.9 ± 4.2
Pb	32	60	41.0 ± 3.5	253.9 ± 6.6	2096.7 ± 16.3

## 3.2 Морфологические и физиологические параметры целевых энергетических растений второго поколения, использованных в процессе фиторемедиации

3.2.1 Морфофизиологические параметры энергетических растений, произрастающих на исторически загрязненных ХОП и ТМЭ почвах

Биометрические параметры *M. sinensis* определяли в лабораторных условиях. Было установлено, что растение проходит полный жизненный цикл как на контрольных, так и на загрязненных ХОП почвах. В марте 2019 года средняя высота побегов, высаженных на контрольной и загрязненной почвах, составила  $16.3 \pm 0.5$  см и  $16.0 \pm 1.2$  см, соответственно (Рисунок 10а). Статистической разницы между значениями не наблюдалось ( $p = 0.68$ ).

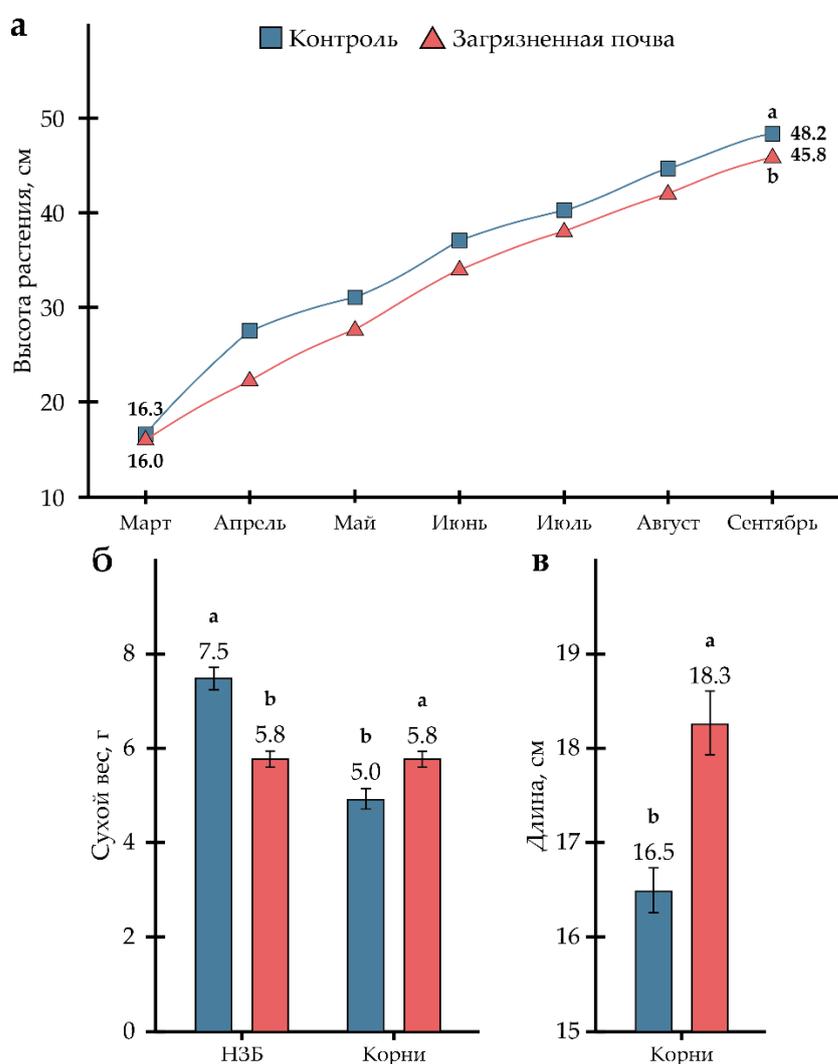


Рисунок 10 – Ростовые параметры *M. sinensis*, выращенного на контрольной и загрязненной ХОП почвах. а) динамика роста ( $p < 0.01$ ); б) сухой вес НЗБ и корней ( $p < 0.001$  и  $p < 0.01$ , соответственно); и в) длина корня ( $p < 0.001$ ).

Разные буквы в пределах одного параметра указывают на статистически достоверную разницу

Шесть месяцев спустя растения достигли  $48.2 \pm 0.3$  см и  $45.8 \pm 0.5$  см, при этом наблюдалось небольшое снижение высоты растений, выращенных на загрязненных почвах (Рисунок 10а). Уровень статистической достоверности для высоты растений в сентябре 2019 составил  $p < 0.01$ . Следует отметить, что культивирование *M. sinensis* в загрязненной почве привело к значительному увеличению длины и массы корней (на 10.8% при  $p < 0.001$  и 16.9% при  $p < 0.01$ , соответственно) в сравнении с параметрами растений, выращенных в контрольной почве (Рисунок 10б, в). Касательно сухого веса НЗБ, растения, выращенные в почве, загрязненной ХОП, производили значительно меньшее количество биомассы (на 23.1%,  $p < 0.001$ ).

Таким образом, средний индекс толерантности (ТИ) *M. sinensis* по отношению к почве, загрязненной ХОП, составляет 0.99, а именно ТИ высоты равен 0.95, сухого веса НЗБ – 0.77, сухого веса корней – 1.17, длины корней – 1.11. Следовательно, учитывая совокупную реакцию растений на высокие концентрации ХОП в почве, проявляющуюся в вышеуказанных параметрах, можно сделать вывод, что *M. sinensis* может переносить сильное загрязнение почвы многочисленными ХОП.

Биологические параметры определялись в тепличных условиях. После семи месяцев выращивания *M. × giganteus* в контрольной (ПР1) и искусственно загрязненной Рb в двух концентрациях (ПР2 и ПР3) почвах высота растений достигла 110.1, 106.6 и 150.5 см, соответственно (Рисунок 11а). Высота растений в вариатах ПР1 и ПР2 статистически не отличалась, в то время как высота растений в ПР3 с почвой, сильно загрязненной Рb ( $2033.3 \pm 64.8$  мг кг<sup>-1</sup>), была значительно выше (на 37% при  $p < 0.01$ ).

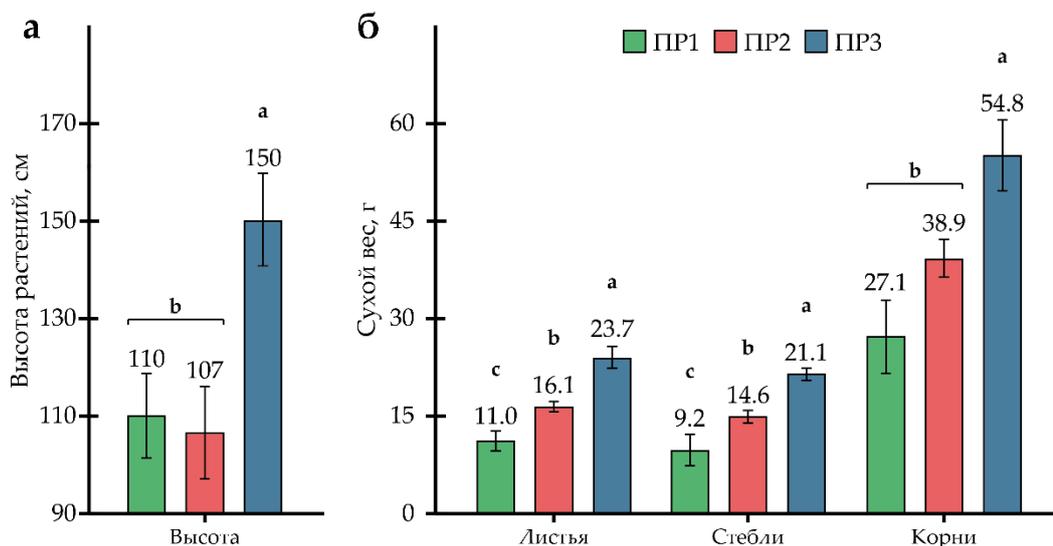


Рисунок 11 – Ростové параметры *M. × giganteus*, выращенного на контрольной и искусственно-загрязненной Рb почвах. а) высота растений ( $p < 0.01$ ); б) сухой вес листьев, стеблей и корней ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$  и  $p < 0.01$ , соответственно).

Разные буквы в пределах одного параметра указывают на статистически достоверную разницу

Высокие концентрации Pb также благоприятно повлияли на продуктивность биомассы (DM листьев и стеблей) и корней (Рисунок 11б). Данный факт может объясняться формой внесения свинца ( $Pb(NO_3)_2$ ) в почву при искусственном загрязнении: стимулирующий эффект повышения ростовых параметров Мискантуса связан с повышением концентрации нитратного азота в почве. Сухой вес листьев растений в обработках ПР2 и ПР3 увеличились на 47% и 59% ( $p < 0.001$ ), соответственно, в сравнении с ПР1 (все пары статистически достоверно отличаются между собой). Сухой вес стеблей растений, выращенных в почве, искусственно загрязненной Pb в двух концентрациях, также увеличился на 59% и 130% ( $p < 0.001$ ), соответственно (все пары статистически достоверно отличаются между собой). Увеличение сухого веса корней в ПР2 и ПР3 составило 43% и 102% ( $p < 0.01$ ), однако существенной разницы между обработками ПР1 и ПР2 обнаружено не было.

Таким образом, среднее значение ТИ *M. × giganteus* по отношению к почве ПР2 с концентрацией  $273.7 \pm 20.5$  мг Pb кг<sup>-1</sup> составил 1.36, в то время как среднее значение ТИ при произрастании в почве ПР3 - 1.96. Следовательно, учитывая совокупную реакцию растения на высокие концентрации Pb в почве, можно сделать вывод, что *M. × giganteus* обладает устойчивостью к высоким концентрациям Pb в почве (~ 35×ПДК (ЧР)).

### 3.2.2 Содержание хлорофилла в листьях *M. sinensis*, произраставшего на исторически загрязненной ХОП почве

В настоящее время изучение признаков устойчивости к загрязняющим факторам, поиск устойчивых форм, а также видов растений, способных накапливать токсичные вещества в больших количествах для применения в технологиях фиторемедиации, становится актуальной задачей. Таким образом, физиологические параметры растений, служащие биоиндикаторами антропогенного воздействия, представляют собой снижение отношения  $Chl_a$  к  $Chl_b$  и увеличение отношения суммы  $Chl_{a+b}$  к  $Car$ .  $Chl_a$  является основным фотосинтетическим пигментом растения, содержание которого уменьшается одновременно с увеличением доли вспомогательных пигментов ( $Chl_b$  и  $Car$ ), что указывает на адаптивную реакцию НЗБ растения на воздействие ксенобиотиков [213]. Для оценки стресса *M. sinensis*, выращенного в почве, загрязненной ХОП, определяли содержание пигментов хлорофилла в листьях (Рисунок 12а, б; Приложение А, Таблица А.1). Содержание  $Chl_a$  в листьях *M. sinensis*, выращенных в почве, загрязненной ХОП, снизилось на 30% по отношению к контрольным значениям (Рисунок 12а). Более того, небольшое снижение содержания  $Chl_b$  (на 37%) и  $Car$  (на 29%) указывает на адаптивную реакцию ассимиляционного аппарата растений к высоким концентрациям ХОП в почве (Рисунок 12а). Наши исследования демонстрируют снижение содержания пигментов хлорофилла и отношения их общего содержания к  $Car$ , что отражает стрессовую реакцию растения на воздействие ХОП и свидетельствует о толерантности *M. sinensis* к ним. Более того, основываясь на литературе и полученных в ходе эксперимента данных, можно предположить, что изменения в соотношении хлорофилловых пигментов являются следствием адаптации

фотосинтетического аппарата растений к ХОП. Следовательно, этот индикаторный параметр может быть использован при оценке устойчивости растений к пестицидам.

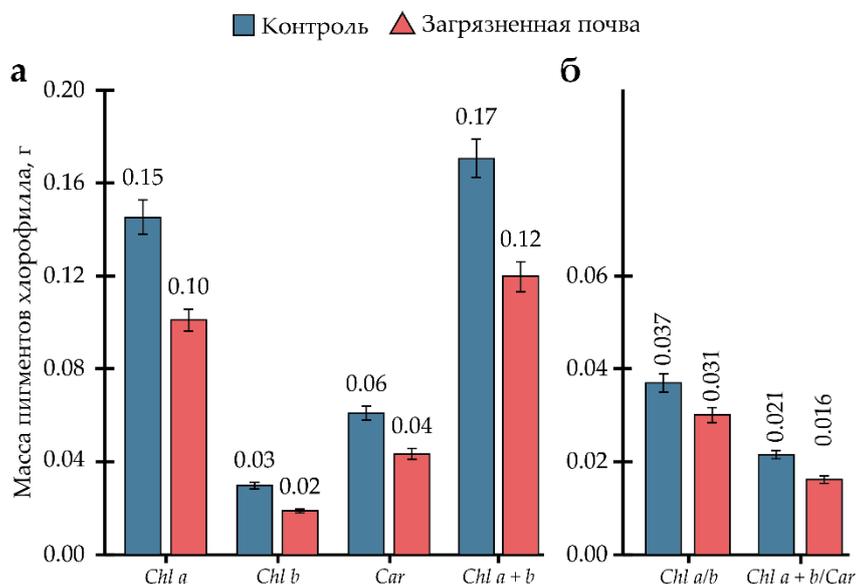


Рисунок 12 – Содержание пигментов хлорофилла в листьях *M. sinensis*, выращенных на исторически загрязненной ХОП почве: а) масса пигментов хлорофилла; и б) показатели соотношения пигментов хлорофилла

### 3.3 Фиторемедиационный потенциал энергетических растений, произрастающих на исторически загрязненных ХОП и ТМЭ почвах

Использование энергетических растений в фитотехнологии, применяемой на слегка загрязненных и заброшенных землях, с одновременным производством биомассы становится популярным, в частности, из-за наличия срочных запросов на увеличение доли биоэкономики [214].

*Miscanthus* sp. зарекомендовал себя как полезная культура для восстановления загрязненных почв [215]. Растение продуктивно и морозостойко, а биомасса является перспективным целлюлозосодержащим сырьем для переработки в целлюлозу, биотопливо и другие биопродукты [164,216,217]. Многочисленные исследования доказали эффективность *M. × giganteus* в фиторемедиации почв, загрязненных ТМЭ [110–114]. Однако в случае загрязнения почвы ХОП, *M. × giganteus* не был способен выдерживать концентрации выше 2×ПДК ( $241 \pm 16$  мкг кг<sup>-1</sup>), тогда как *M. sinensis* оказался более толерантным, он способен расти при концентрациях, достигающих 62×ПДК [115, p. 65].

#### 3.3.1 Фиторемедиационный потенциал *M. sinensis*, произрастающего на исторически загрязненной ХОП почве

Казахстан сталкивается с растущими проблемами загрязнения почв, вызванными неиспользованными устаревшими пестицидами. В 2012 г. было зарегистрировано 1 500 т устаревших пестицидов и их смесей по всей стране

вместе с 602 складами пестицидов, тогда как 64 из них расположены в Алматинской области [11, р. 8,218]. Целью этого исследования было изучение параметров фиторемедиации и физиологических характеристик *M. sinensis* при выращивании на загрязненной ХОП почве, отобранной вокруг бывшего склада устаревших пестицидов.

Результаты химического анализа показали, что только все 24 ХОП, присутствующих в почве, были представлены в тканях *M. sinensis* (Приложение А, Таблица А.2). В зависимости от химической структуры ХОП, мигрировавшие из почвы в ткани *M. sinensis*, можно разделить на три группы: а) ДДТ и аналоги (2.4-ДДД, 4.4-ДДД, 4.4-ДДЭ, 4.4-ДДТ, хлорбензилат, метоксихлор, дикофол); б) изомеры ГХЦГ ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\delta$ -,  $\gamma$ -); и в) циклодиены и родственные соединения (альдрин, дильдрин, эндрин (альдегид), гептахлор (эпоксид), хлордан, эндосульфат ( $\alpha$ ,  $\beta$ , сульфат)). Как видно из таблицы 1, колебания молекулярной массы ( $M_r$ ) внутри каждой из этих групп незначительны.

*ДДТ и его аналоги.*  $M_r$  ДДТ и его аналогов варьировалась в диапазоне от 318.0 до 370.5 г моль<sup>-1</sup>. Среди ХОП этой группы, наибольшей гидрофобностью ( $\log K_{ow} = 6.91$ ) обладает 4.4-ДДТ, тогда как наибольшую  $M_r$  равную 370.5 г моль<sup>-1</sup> имеет дикофол. Коэффициент гидрофобности для 4.4-ДДЭ немного ниже (6.51) при  $M_r$  318.0 г моль<sup>-1</sup>, а наименьший  $\log K_{ow}$  обнаружен для хлорбензилата (4.74) при  $M_r$  325.2 г моль<sup>-1</sup> (Таблица 1). Накопление ХОП этой группы в тканях *M. sinensis* имело следующую тенденцию: ХОП 2.4-ДДД, 4.4-ДДД и хлорбензилат не концентрировались в биомассе *M. sinensis* ВСФ для НЗБ и корней были ниже 1, что свидетельствует об отсутствии аккумулятивной способности растения в отношении этих пестицидов; наибольший ВСФ был обнаружен для дикофола и был равен 5.0 и 66.8 для НЗБ и корней, соответственно; также высокие показатели ВСФ были обнаружены для метоксихлора - 3.9 и 3.3 для НЗБ и корней, соответственно. 4.4-ДДЭ больше аккумулировался в корневой системе растения с ВСФ равным 2.07, тогда как его ВСФ для НЗБ был равен 1.56 (Рисунок 13а).

Согласно значениям коэффициента транслокации (TLF) *M. sinensis* фитостабилизирует 4.4-ДДЭ и дикофол, т.е. большая часть этих ХОП накапливается в корнях, тогда как в отношении 4.4-ДДТ и метоксихлора наблюдается легкий потенциал к фитоэкстракции (Рисунок 13б).

Таким образом, *M. sinensis* обладает потенциалом к биоконцентрации 4.4-ДДТ, 4.4-ДДЭ, дикофола и метоксихлора (ВСФ >1) и в НЗБ и в корневой системе (Рисунок 13а).

*Изомеры ГХЦГ.*  $M_r$  изомеров ГХЦГ ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\delta$ -,  $\gamma$ -) варьируется от 290.8 до 296.9 г моль<sup>-1</sup>. В пределах этой группы,  $\delta$ -ГХЦГ имеет наибольшее значение коэффициента гидрофобности  $\log K_{ow}$  (4.14), а  $\gamma$ -ГХЦГ - наименьшее (3.72), в то время как  $M_r$  этих изомеров одинакова (Таблица 1). Накопление изомеров ГХЦГ в тканях *M. sinensis* происходило по методу фитоэкстракции: три из 4-х изомеров больше аккумулировались в НЗБ, нежели в корневой системе, тогда как  $\alpha$ -ГХЦГ распределялся равномерно по всему растению (Рисунок 14а, б). Однако, несмотря на отчетливую закономерность, согласно значениям ВСФ *M. sinensis* не обладает потенциалом концентрирования  $\alpha$ - и  $\delta$ -ГХЦГ (ВСФ < 1).

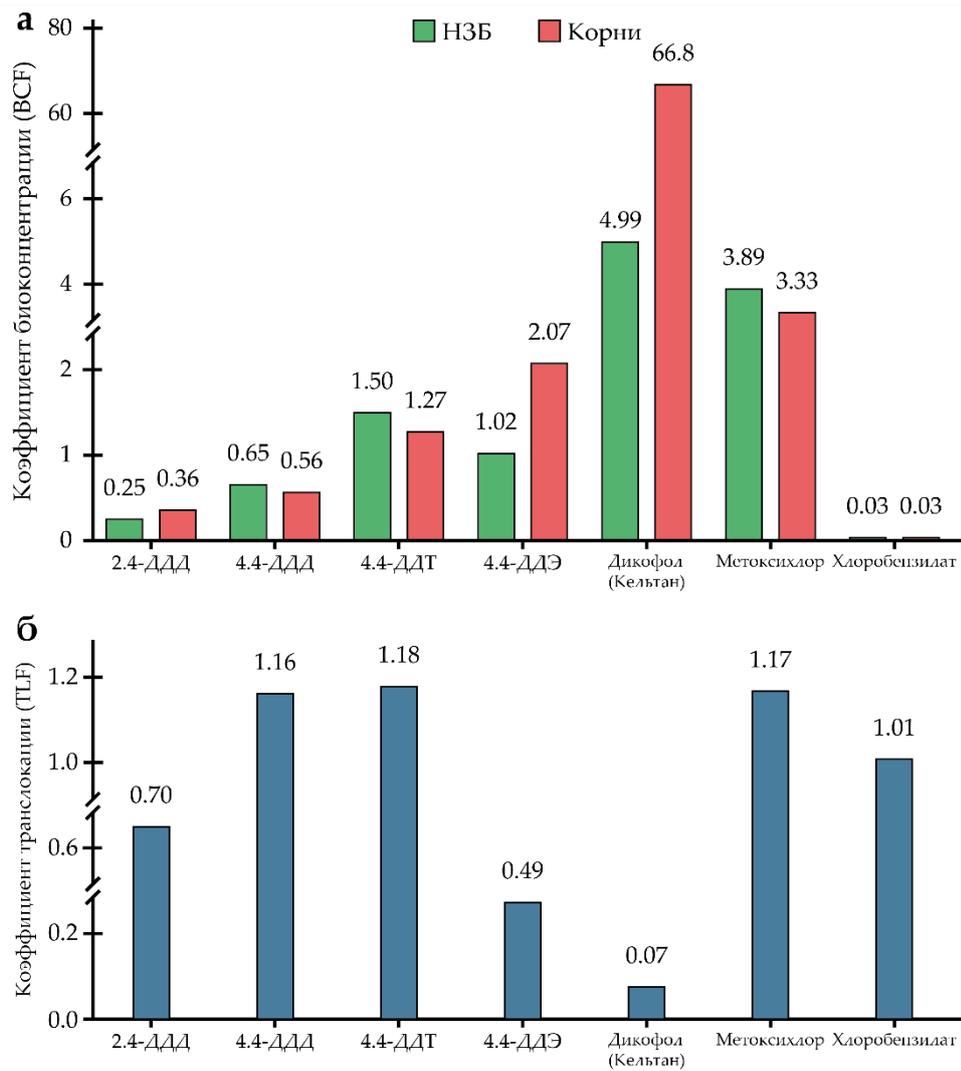


Рисунок 13 – Коэффициенты фиторемедиации *M. sinensis*, выращенного в почве, загрязненной ХОП в отношении группы ДДТ и аналогов. а) BCF; б) TLF

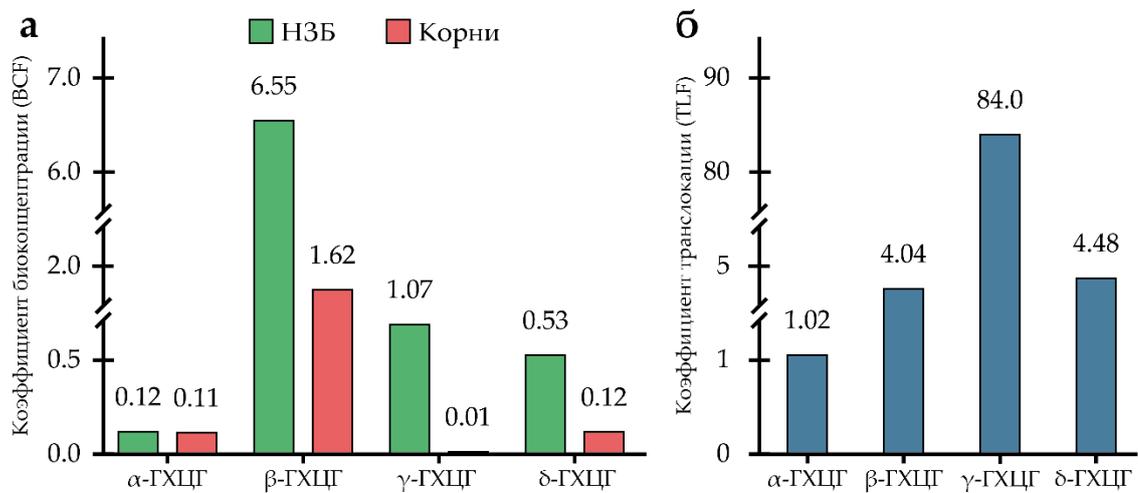


Рисунок 14 - Коэффициенты фиторемедиации *M. sinensis*, выращенного в почве, загрязненной ХОП в отношении группы измеров ГХЦГ. а) BCF; б) TLF

Наибольшее накопление среди этой группы ХОП было достигнуто для  $\beta$ -ГХЦГ, его BCF равен 6.55 и 1.62 для НЗБ и корневой системы, соответственно, с TLF равным 4.04. Тогда как  $\gamma$ -ГХЦГ в силу своей слабой гидрофобности почти полностью мигрировал из корней в НЗБ (TLF = 84), аккумулируясь в ней. Таким образом, *M. sinensis* обладает способностью к биоконцентрации менее токсичных изомеров ( $\beta$ - ГХЦГ) в достаточно больших количествах, в то время как в случае более токсичного  $\gamma$ -ГХЦГ биоконцентрация ниже ( $\sim 1$ ).

*Циклодиены и родственные соединения.*  $M_r$  циклодиенов и родственных соединений (альдрин, дильдрин, эндрин (альдегид), гептахлор (эпоксид), хлордан, эндосульфан ( $\alpha$ ,  $\beta$ , сульфат)) находится в диапазоне от 364.9 до 422.9 г моль<sup>-1</sup>. Дильдрин и эндрин имеют одинаковые  $\log K_{ow}$  (5.40) и  $M_r$  (380.9 г моль<sup>-1</sup>). Альдрин является наиболее гидрофобным  $\log K_{ow}$  ( $\log K_{ow} = 6.50$ ) ХОП с наименьшей  $M_r$  364.9 г моль<sup>-1</sup> среди этой группы пестицидов (Таблица 1). Эндосульфан сульфат напротив имеет низкую гидрофобность с наибольшей  $M_r$ . Гептахлор эпоксид, эндосульфан  $\alpha$  и эндрин не концентрировались в биомассе *M. sinensis* (BCF < 1), следовательно, растение не способно поглощать и аккумулировать эти ХОП в тканях (Рисунок 15а).

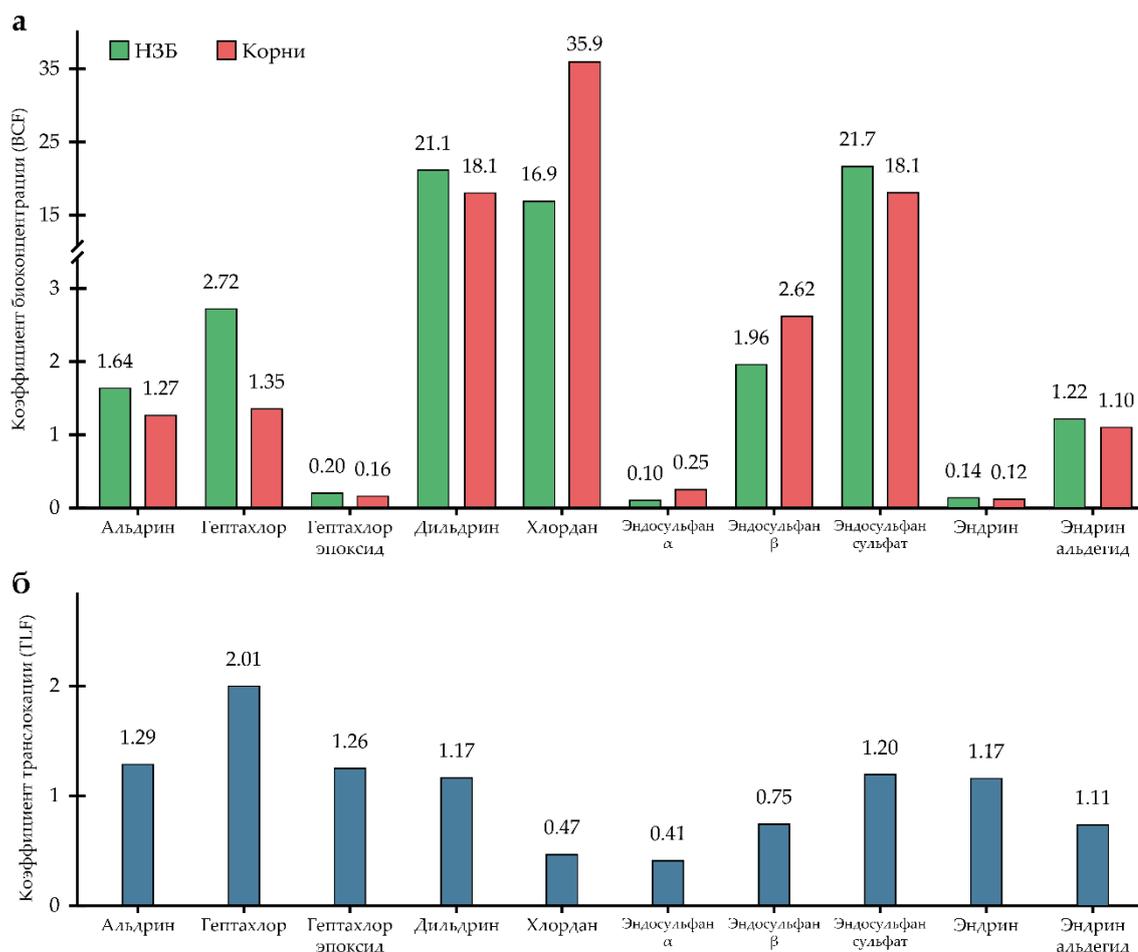


Рисунок 15 - Коэффициенты фиторемедиации *M. sinensis*, выращенного в почве, загрязненной ХОП в отношении группы циклодиенов и родственных соединений. а) BCF; б) TLF

Высокая аккумуляторная способность *M. sinensis* была зафиксирована для дильдрина, хлордана и эндосульфана сульфата, их ВСФ варьировались в диапазоне от 16.9 до 35.9. Накопление альдрина, гептахлора, эндосульфана  $\beta$  и эндрин альдегида в тканях исследуемого растения было значительным, ВСФ варьировался от 1.10 до 2.72. Среди 6 ХОП этой группы, которые эффективно накапливаются в тканях *M. sinensis*, альдрин, дильдрин, эндосульфан  $\beta$ , эндосульфан сульфат и эндрин альдегид аккумулируются равномерно по всему растению, тогда как гептахлор фитоекстрагируется в НЗБ (TLF = 2.01), а хлордан фитостабилизируется в корнях (TLF = 0.47) (Рисунок 156).

3.3.2 Фиторемедиационный потенциал *M. × giganteus*, произрастающего на исторически загрязненной ТМЭ почве

Самая высокая концентрация ТМЭ была обнаружена в корнях, что является нормальным явлением для *M. × giganteus* [77,112] и доказывает течение процесса фитостабилизации. Это тенденция наблюдается во всех экспериментальных обработках. Только в случае Mn и Sr, тенденция была противоположной: эти ТМЭ в основном накапливались в НЗБ, а именно в листьях.

Среди пяти ТМЭ, обнаруженных в тканях растений, существенным было только поглощение Mn: ВСФ варьировались от 1.2 до 1.6 для НЗБ и от 0.5 до 0.7 в корнях. С увеличением концентрации Pb в почве накопление Mn уменьшилось на 25.6% и 31.8% в НЗБ и корнях, соответственно. Интересно, что у растений, выращенных в почве ПР2 с промежуточной концентрацией Pb, аккумуляция Mn в НЗБ незначительно увеличилась (на 5.6%), в то время как в корнях оставалась на том же уровне с ВСФ = 0.7. Zn в основном накапливался в корнях с ВСФ в диапазоне от 0.8 до 0.5, а с увеличением концентрации Pb в почве поглощение Zn уменьшилось на 26.1%. ВСФ Zn для НЗБ колебался в очень узком диапазоне, поэтому можно сделать вывод, что его накопление в НЗБ *M. × giganteus* не зависит от концентраций Pb в почве, и остается приблизительно на том же уровне (ВСФ = 0.2). Cu и Pb, а также Zn в основном накапливались в корнях растений, однако объем поглощения был слишком мал. Накопление Cu и Pb в НЗБ оставалось постоянным с увеличением концентрации Pb в почве (ВСФ равный 0.02 и 0.01, соответственно), в то время как в корнях уменьшилось на 25.6% и 25.8%, соответственно. Что касается Sr, то его накопление в обеих частях растений оставалось постоянным с увеличением концентрации Pb в почве (ВСФ равный 0.08 и 0.06 в НЗБ и корнях, соответственно). Кроме того, Sr, а также Mn в основном накапливались в НЗБ *M. × giganteus*. Следует отметить: уменьшение накопления Cu, Zn и Pb в корнях растений с увеличением накопления Pb в почве составило 25.8% ( $\pm 0.2$ ).

Транслокация в НЗБ *M. × giganteus* наблюдалась только для Mn и Sr (TLF > 1). Транслокация Mn с увеличением концентрации Pb в почве последовательно увеличивалась с 2.5 до 2.7, в то время как транслокация Sr не изменялась. В случае трех других ТМЭ, в НЗБ были обнаружены следовые концентрации, но значения TLF не превышали 0.5. Таким образом, *M. × giganteus* не обладает потенциалом для фитоекстракции Cu, Zn и Pb.

Динамика поглощения Pb корнями *M. × giganteus* коррелировала с увеличением содержания Pb в искусственно-загрязненных почвах (Таблица 10). В системе ПР1 общее поглощение Pb составляло 81.1 мкг, из которых 14.3 мкг находилось в НЗБ. С увеличением концентрации Pb в почве содержание Pb во всех частях растений увеличилось более чем на 7 тыс %, достигнув 6 000 мкг (6 мг). Общее содержание Mn увеличилось в среднем на 37.7% в системах ПР2 и ПР3, достигнув 36 мг в растениях. Содержание Cu, а также Mn увеличилось в обеих системах на 45.2% и 50.4%, соответственно. Увеличение общего содержания Zn было обнаружено только в системе ПР3 и составило 55.9%. Общее содержание Sr увеличилось на 68.2% и 89.7% в системах ПР2 и ПР3, соответственно.

Таким образом, увеличение концентрации Pb в почве усилило накопление пяти ТМЭ в следующем порядке возрастания  $Mn < Cu < Zn < Sr < Pb$ , что соответствует порядку увеличения их  $M_r$ .

Таблица 10 – Масса ТМЭ, аккумулированная в тканях *M. × giganteus*

Почва	Орган	Mn, мкг	Cu, мкг	Zn, мкг	Sr, мкг	Pb, мкг
ПР1	Листья	13 797 <b>a</b>	26.7 <b>c</b>	459 <b>c</b>	685 <b>b</b>	13.8 <b>c</b>
	Стебли	3 356 <b>c</b>	5.6 <b>c</b>	226 <b>c</b>	56.9 <b>c</b>	0.5 <b>c</b>
	Корни	8 780 <b>b</b>	300 <b>b</b>	4 627 <b>a</b>	736 <b>b</b>	66.8 <b>c</b>
ПР2	Листья	16 385 <b>a</b>	28.6 <b>c</b>	708 <b>c</b>	916 <b>b</b>	63.7 <b>c</b>
	Стебли	7 961 <b>c</b>	15.7 <b>c</b>	648 <b>c</b>	180 <b>c</b>	37.1 <b>c</b>
	Корни	11 543 <b>b</b>	420 <b>a</b>	4 172 <b>b</b>	1 389 <b>a</b>	954 <b>b</b>
ПР3	Листья	18 243 <b>a</b>	58.7 <b>c</b>	1 177 <b>c</b>	1 324 <b>a</b>	1 243 <b>b</b>
	Стебли	6 484 <b>c</b>	18.2 <b>c</b>	473 <b>c</b>	167 <b>c</b>	301 <b>c</b>
	Корни	10 807 <b>b</b>	421 <b>a</b>	6 631 <b>a</b>	1 312 <b>a</b>	4 461 <b>a</b>
Эффект концентрации Pb в почве:		$p < 0.001$	$p < 0.01$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$
Эффект органа:		$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$
Кумулятивный эффект:		$p = 0.23$	$p < 0.01$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$

### 3.4 Оптимизация процесса фиторемедиации загрязненных почв с помощью почвенных добавок

3.4.1 Влияние почвенных добавок на фиторемедиационный потенциал и урожайность биомассы *M. sinensis*, произрастающего на исторически загрязненной ХОП почве

Целью данного исследования было изучение параметров фиторемедиации и физиологических характеристик *M. sinensis* при выращивании культуры на почве, загрязненной ХОП, и выяснение влияния двух почвенных добавок: Tween 20 и АУ на процесс. Были протестированы следующие параметры: а) динамика роста; б) сухая масса НЗБ и корней; в) содержание пигментов хлорофилла; г) концентрации ХОП в органах растения. Предполагалось, что обобщенные

данные позволят установить взаимосвязь между химической структурой ХОП и фиторемедиационным поведением *M. sinensis*. Эксперимент содержит следующие обработки: исторически загрязненная ХОП почва была взята в качестве контрольной обработки; эта же (контрольная) почва, с внесенным Tween 20, была названа Т20; контрольная почва, обогащенная активированным углем, была названа АУ.

*Физиологические параметры растений.* Динамика роста *M. sinensis* на поразному обработанных почвах представлена на рисунке 16а. В марте средняя высота саженцев *M. sinensis* при всех обработках составила  $16.3 \pm 0.3$  см ( $p = 0.36$ ). Положительное влияние Т20 и АУ на высоту растения было заметно в начале вегетации, в течение первого месяца было зафиксировано увеличение в 1.4 раза. Применение Т20 увеличивало рост в течение всего эксперимента, в то время как воздействие АУ ингибировалось по прошествии двух месяцев.

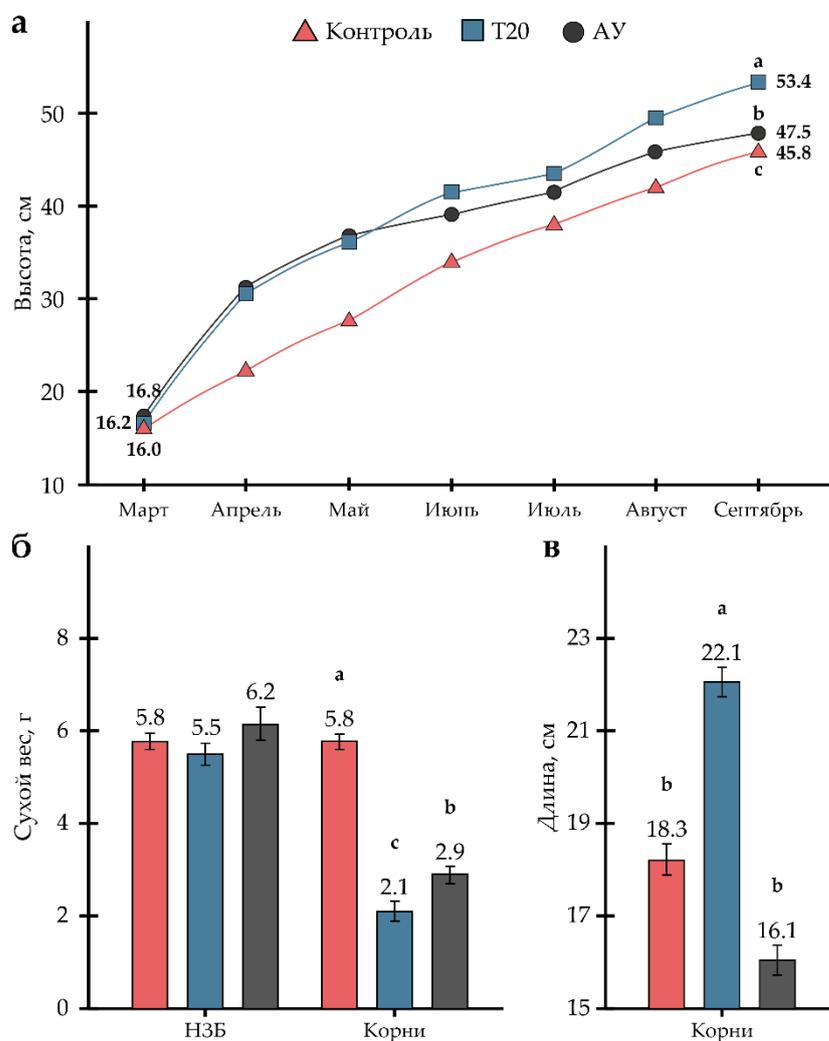


Рисунок 16 – Ростовые параметры *M. sinensis*, росшего в почве, загрязненной ХОП, обработанной Т20 или АУ. а) динамика роста ( $p < 0.001$ ); б) сухой вес НЗБ и корней; и в) длина корня. Разные буквы в пределах одного параметра указывают на статистически достоверную разницу

Непосредственно перед сбором урожая разница между растениями в T20 и контролем достигла 7.6 см, в то время как между обогащенной АУ почвой и контролем она составляла всего 1.7 см, тем не менее, все еще оставалась статистически достоверной ( $p < 0.001$ ). Была обнаружена существенная разница в высоте растений, выращенными в присутствии АУ ( $47.5 \pm 0.5$  см) и T20 ( $53.4 \pm 0.4$  см).

При рассмотрении увеличения высоты растений на основе средних показателей (Рисунок 16а), наибольший и наиболее значительный разрыв в росте наблюдался в первый месяц. Прирост высоты *M. sinensis*, посаженного на не обработанную почву, составила  $6.3 \pm 0.6$  см в течение первого месяца и обладала стабильную восходящей тенденцией в диапазоне от  $5.5 \pm 0.6$  до  $6.3 \pm 0.6$  см.

Когда растение росло при обработке T20, в первый месяц после посадки наблюдался отчетливый эффект в росте. Значения высоты были выше в 2.3 раза в сравнении контрольными значениями. Кроме того, была отмечена колеблющаяся тенденция. Аналогичный эффект был получен при обработке АУ: высота растения была выше в 2.3 раза. Однако этот благоприятный эффект наблюдался только в течение первых двух месяцев, затем он исчез, и величина роста почти сравнялась с контрольной выборкой.

Сухой вес корней *M. sinensis* был значительно ниже при обработке растения T20 (2.1 г) и АУ (2.9 г), чем в контроле, уменьшившись в 2.8 и 2 раза, соответственно (Рисунок 16б). Длина корня растений, выращенных в почве, обработанной T20, составляла  $22.1 \pm 0.3$  см, в то время как в почве, обработанной АУ, она была равна  $16.1 \pm 0.3$  см. Сравнение физиологических параметров *M. sinensis*, выращенных в присутствии двух почвенных добавок, не выявило очевидной закономерности. Однако статистический анализ ANOVA показал значительную разницу между некоторыми выборками по каждому физиологическому параметру в отдельности. Следовательно, можно сделать вывод, что в течение шести месяцев наилучший показатель по длине корня ( $22.1 \pm 0.3$  см) принадлежал *M. sinensis*, выращенному на почве с добавлением T20. Таким образом, активация роста корней является одним из факторов, подверженных влиянию T20. Что касается веса НЗБ, то никакой разницы между образцами, выращенными на загрязненных почвах, не наблюдалось. В рамках физиологического параметра сухой вес корней, наилучший показатель был зафиксирован у *M. sinensis*, выращенного не обработанной почве, имел лучший показатель, тогда как самый низкий показатель был у растений, выращенных в присутствии T20.

*Содержание пигментов хлорофилла.* Оптимизация условий роста *M. sinensis* в почве, загрязненной ХОП, внесением изменений в систему почвы показало, что АУ, в отличие от T20, увеличил общее содержание пигментов хлорофилла в листьях на 30% в сравнении с не обработанной загрязненной почвой (Рисунок 17а). В то время как обработка почвы T20 привело к снижению общего содержания пигментов хлорофилла (на 45%). *Chl<sub>a</sub>*, *Chl<sub>b</sub>* и *Car* снизились на 43%, 53% и 36%, соответственно (Рисунок 17а). Внесение АУ в систему «почва-растение» улучшило реакцию последнего на стресс при высоких концентрациях ХОП в почве: содержание *Chl<sub>a</sub>*, *Chl<sub>b</sub>* и *Car* увеличилось на 30%,

26% и 25%, соответственно (Рисунок 17а). Следует отметить, что соотношение  $Chl_{a/b}$  увеличилось в обоих случаях оптимизации, в то время как отношение суммы пигментов хлорофилла к содержанию  $Car$  уменьшилось на 18% и увеличилось на 11% в присутствии Т20 и АУ, соответственно. Таким образом, АУ повысил адаптивность *M. sinensis* к высоким концентрациям ХОП в почве.

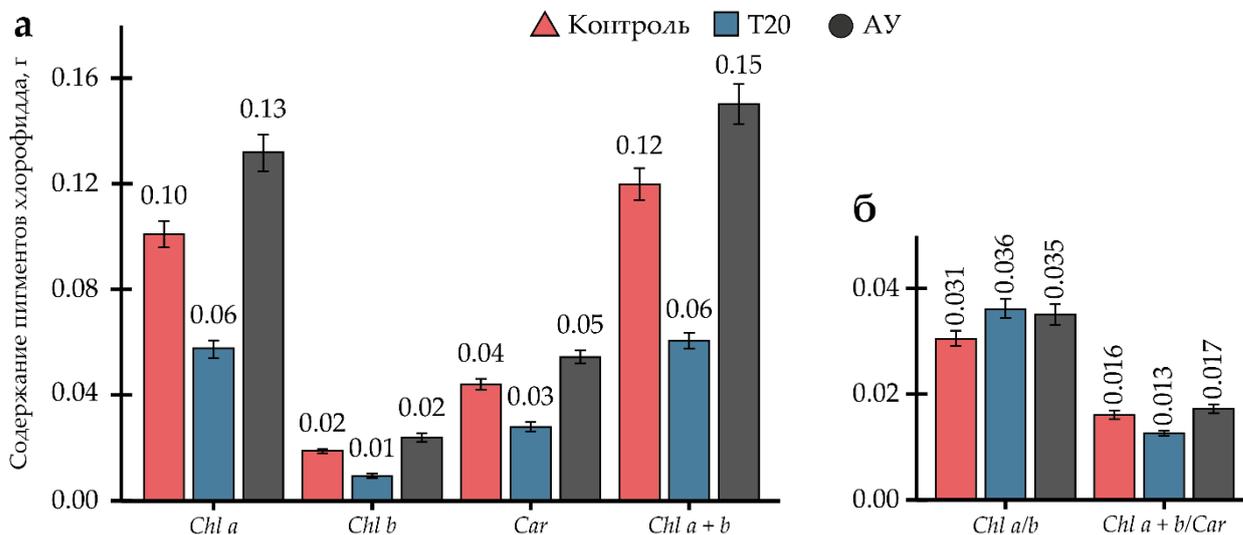


Рисунок 17 – Содержание пигментов хлорофилла в листьях *M. sinensis*, выращенных на исторически загрязненной ХОП почве, обработанной Т20 или АУ: а) масса пигментов; б) показатели соотношения пигментов хлорофилла

Как видно из полученных данных, сопутствующее применение Tween 20 и АУ в процессе фиторемедиации загрязненной почвы повышает адаптивность *M. sinensis* к загрязнителям.

#### Влияние почвенных добавок на фиторемедиационный потенциал *M. sinensis*.

Результаты химического анализа показали, что только все 24 наименования ХОП, присутствующих в почве, были обнаружены в тканях *M. sinensis* (Приложение А, Таблица А.2). В зависимости от химической структуры ХОП, мигрировавшие из почвы в ткани *M. sinensis*, можно разделить на три группы: а) ДДТ и аналоги (2.4-ДДД, 4.4-ДДД, 4.4-ДДЭ, 4.4-ДДТ, хлорбензилат, метоксихлор, дикофол); б) изомеры ГХЦГ ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\delta$ -,  $\gamma$ -); и в) циклодиены и родственные соединения (альдрин, дильдрин, эндрин (альдегид), гептахлор (эпоксид), хлордан, эндосульфат ( $\alpha$ ,  $\beta$ , сульфат)). Фиторемедиационный потенциал *M. sinensis*, а именно улучшение фитоэкстракционной способности по отношению к ХОП, может быть улучшен за счет усиления транслокации пестицидов из корней в НЗБ [219].

В подразделе 3.3.1 был подробно рассмотрен фиторемедиационный потенциал *M. sinensis* в отношении исторически загрязненной ХОП почвы без внесения почвенных добавок. Подводя итог подразделу, *M. sinensis* обладает потенциалом для биоконцентрации 4.4-ДДЭ, 4.4-ДДТ, дикофол метоксихлор,  $\beta$ -ГХЦГ,  $\gamma$ -ГХЦГ, альдрин, гептахлор, дильдрин, хлордан, эндосульфат  $\beta$ , эндосульфат сульфат, эндрин альдегид, гексабромбензен и ГХБ (Приложение А,

Таблица А.1). В результате исследований выявлено три разных поведения *M. sinensis* по поглощению и аккумуляции ХОП: 1) *M. sinensis* проявляет фитостабилизационные способности по отношению к 4.4-ДДЭ (TLF = 0.49), дикофолу (TLF = 0.07) и хлордану (TLF = 0.47); 2) *M. sinensis* фитоэкстрагирует β-ГХЦГ (TLF = 4.04), γ-ГХЦГ (TLF = 84.0) и гептахлор (TLF = 2.01); *M. sinensis* аккумулирует 4.4-ДДТ, метоксихлор, альдрин, дильдрин, эндосульфат β, эндосульфат сульфат и эндрин альдегид в равной степени в НЗБ и корнях (Рисунки 13б, 14б, 15б).

Таблица 11 – Коэффициент биоконцентрации (BCF) ХОП в тканях *M. sinensis*, произрастающего в исторически загрязненной почве, обработанной Т20 или АУ

ХОП	ЗП		Т20		АУ		p-value
	НЗБ	Корни	НЗБ	Корни	НЗБ	Корни	
2.4-ДДД	0.25 <b>d</b>	0.36 <b>c</b>	0.10 <b>e</b>	1.04 <b>a</b>	0.10 <b>e</b>	0.49 <b>b</b>	< 0.001
4.4-ДДД	0.65 <b>b</b>	0.56 <b>b</b>	0.25 <b>c</b>	2.63 <b>a</b>	0.22 <b>c</b>	0.56 <b>b</b>	< 0.001
4.4-ДДТ	1.50 <b>b</b>	1.27 <b>b</b>	0.36 <b>c</b>	5.36 <b>a</b>	0.61 <b>c</b>	1.34 <b>b</b>	< 0.001
4.4-ДДЭ	1.02 <b>d</b>	2.07 <b>c</b>	0.56 <b>e</b>	4.47 <b>a</b>	0.55 <b>e</b>	3.00 <b>b</b>	< 0.001
α-ГХЦГ	0.12 <b>c</b>	0.11 <b>c</b>	0.15 <b>bc</b>	ND	0.23 <b>ab</b>	0.27 <b>a</b>	< 0.01
β-ГХЦГ	6.55 <b>a</b>	1.62 <b>c</b>	1.51 <b>c</b>	4.72 <b>b</b>	2.00 <b>c</b>	1.45 <b>c</b>	< 0.001
γ-ГХЦГ	1.07 <b>a</b>	0.01 <b>b</b>	0.01 <b>b</b>	0.04 <b>b</b>	0.02 <b>b</b>	0.03 <b>b</b>	< 0.001
δ-ГХЦГ	0.53 <b>ab</b>	0.12 <b>c</b>	0.14 <b>c</b>	0.58 <b>a</b>	0.19 <b>c</b>	0.43 <b>b</b>	< 0.001
Альдрин	1.64 <b>b</b>	1.27 <b>bc</b>	0.70 <b>d</b>	5.63 <b>a</b>	1.01 <b>cd</b>	0.84 <b>cd</b>	< 0.001
Гексабромбензен	2.08 <b>b</b>	1.39 <b>c</b>	0.37 <b>d</b>	4.02 <b>a</b>	0.09 <b>d</b>	1.61 <b>bc</b>	< 0.001
Гептахлор	2.72 <b>b</b>	1.35 <b>c</b>	1.02 <b>c</b>	4.32 <b>a</b>	1.44 <b>c</b>	1.48 <b>c</b>	< 0.001
Гептахлор эпоксид	0.20 <b>c</b>	0.16 <b>cd</b>	0.08 <b>e</b>	0.68 <b>a</b>	0.12 <b>de</b>	0.32 <b>b</b>	< 0.001
ГХБ	28.7 <b>a</b>	5.45 <b>b</b>	5.36 <b>b</b>	7.17 <b>b</b>	7.16 <b>b</b>	4.43 <b>b</b>	< 0.001
Дибутил хлорэндат	0.11 <b>b</b>	0.09 <b>b</b>	0.01 <b>c</b>	0.42 <b>b</b>	0.01 <b>c</b>	0.10 <b>b</b>	< 0.001
Дикофол (Кельтан)	4.99 <b>d</b>	66.8 <b>b</b>	2.74 <b>d</b>	16.6 <b>c</b>	2.71 <b>d</b>	102 <b>a</b>	< 0.001
Дильдрин	21.1 <b>b</b>	18.0 <b>b</b>	8.17 <b>c</b>	79.1 <b>a</b>	9.23 <b>c</b>	14.7 <b>bc</b>	< 0.001
Метоксихлор	3.89 <b>b</b>	3.33 <b>b</b>	0.69 <b>c</b>	8.01 <b>a</b>	1.14 <b>b</b>	3.73 <b>c</b>	< 0.001
Хлорбензилат	0.034 <b>b</b>	0.034 <b>b</b>	0.008 <b>c</b>	0.104 <b>a</b>	0.012 <b>c</b>	0.012 <b>c</b>	< 0.001
Хлордан	16.9 <b>c</b>	35.9 <b>b</b>	5.46 <b>d</b>	69.1 <b>a</b>	8.21 <b>d</b>	9.49 <b>d</b>	< 0.001
Эндосульфат α	0.10 <b>d</b>	0.25 <b>c</b>	0.07 <b>de</b>	0.44 <b>a</b>	0.05 <b>e</b>	0.38 <b>b</b>	< 0.001
Эндосульфат β	1.96 <b>c</b>	2.62 <b>c</b>	0.92 <b>d</b>	7.50 <b>a</b>	0.66 <b>d</b>	3.42 <b>b</b>	< 0.001
Эндосульфат сульфат	18.1 <b>b</b>	21.7 <b>b</b>	9.1 <b>c</b>	89.8 <b>a</b>	6.4 <b>c</b>	21.8 <b>b</b>	< 0.001
Эндрин	0.14 <b>b</b>	0.12 <b>b</b>	0.07 <b>c</b>	0.50 <b>a</b>	0.06 <b>c</b>	0.10 <b>bc</b>	< 0.001
Эндрин альдегид	1.22 <b>b</b>	1.10 <b>b</b>	0.53 <b>c</b>	4.87 <b>a</b>	0.38 <b>c</b>	1.15 <b>b</b>	< 0.001

Когда *M. sinensis* культивировали в почве с Tween 20, была выявлена одна строгая закономерность: при внесении Tween 20 в систему «почва-растение», миграция большинства (23 из 24 наименований ХОП) из корневой системы в НЗБ ингибировалась, а именно активировался процесс фитостабилизации (Таблица 11), с одним исключением по отношению к α-ГХЦГ – он был найден только в НЗБ. К дальнейшему рассмотрению будут взяты только те ХОП, чьи коэффициенты биоконцентрации выше 1, так как это свидетельствует о наличии фиторемедиационного потенциала исследуемого растения по отношению к ним.

Следовательно, можно заключить, что *M. sinensis* не обладает фиторемедиационным потенциалом для очищения почв от хлорбензилата, дибутил хлорэндата, эндосульфана  $\alpha$ , эндрин, гептахлор эпоксида,  $\alpha$ -ГХЦГ,  $\delta$ -ГХЦГ, 2.4-ДДД и 4.4-ДДД (9 ХОП) вне зависимости от внесения почвенных добавок (Таблица 11).

Внесение Tween 20 в почву увеличивало общее поглощение 10 и фитостабилизацию 14 из 15 ХОП, биоконцентрируемых в тканях *M. sinensis*: альдрин в 2.2 и 10.4 раза, хлордана – в 1.4 и 6.0 раза, дильдрин – в 2.2 и 11.3 раза, эндосульфана  $\beta$  – в 1.8 и 6.1 раза, эндосульфана сульфата – в 2.5 и 8.2 раза, эндрин альдегида – в 2.3 и 10.1 раза, гептахлора – в 1.3 и 8.5 раза, гексабромбензена – в 1.3 и 16.0 раза, метоксихлора – в 1.2 и 13.6 раза, 4.4-ДДТ – в 2.1 и 17.5 раза, и 4.4-ДДЭ – в 1.6 и 3.9 раза, соответственно. Общее накопление ГХБ,  $\beta$ -ГХЦГ и  $\gamma$ -ГХЦГ снижалось в присутствии Tween 20 (в 2.7, 1.3 и 23.1 раза, соответственно), однако фитостабилизация увеличивалась (в 7.1, 12.6 и 278 раз, соответственно). Только поглощение дикофола (кельтан) и его миграция в НЗБ не прямо пропорционально отличается от поведения других ХОП: общая аккумуляция снижается в 3.7 раз, а миграция в НЗБ увеличивается в 2.2 раза, т.е. Tween 20 активизирует фитоэкстракцию дикофола.

При выращивании *M. sinensis* в присутствии АУ, инициируется процесс фитостабилизации для всех 21 ХОП из 24, за исключением хлордана, чья миграция в НЗБ *M. sinensis* увеличивалась в 1.8 раза, а также альдрин и хлорбензилата, их транслокация внутри растения не подверглась влиянию АУ. Помимо усиления фитостабилизационного потенциала исследуемого растения, АУ также снижает общее поглощение ХОП (17 из 24): альдрин в 1.6 раз, хлордан в 3.0 раз, дильдрин – в 1.6 раз, эндосульфана  $\beta$  – в 1.1 раза, эндосульфана сульфата – в 1.4 раза, эндрин альдегид – в 1.5 раз, ГХБ – в 3.0 раз, гептахлора – в 1.4 раза, гексабромбензена – в 2.0 раза, метоксихлора – в 1.5 раз,  $\beta$ -ГХЦГ – в 2.4 раз,  $\gamma$ -ГХЦГ – в 23.1 раз, и 4.4-ДДТ – в 1.4 раза. Усиление фитостабилизационного потенциала варьировался в диапазоне от 1.9 до 115 раз. Интересная тенденция наблюдается для дикофола: при внесении Tween 20 его общее накопление снижается, а при внесении АУ – увеличивается (в 1.5 раза), хотя ожидалось обратное. Также зафиксировано увеличение аккумуляции 4.4-ДДЭ (в 1.2 раза). Таким образом, АУ может быть эффективно использован для выращивания *M. sinensis* на загрязненных ХОП пестицидами для получения чистой биомассы для преобразования в биопродукты.

*Накопление ХОП в тканях M. sinensis в зависимости от гидрофобности.* Исследование фиторемедиационного потенциала *M. sinensis*, основанное только на данных о концентрациях ХОП, имеет лишь некоторые ограничения. Для более глубокого изучения поведения растений масса каждого ХОП (в мкг) была рассчитана отдельно для НЗБ и корней (Приложение А, Таблица А.3).

При произрастании *M. sinensis* в необработанной почве, накапливал широкий спектр ХОП, и несмотря на то, что концентрации ХОП в тканях растения были сравнительно малы, вычисленные массы ХОП были существенными. Наибольшая масса, аккумулялированная в тканях Мискантуса, принадлежит 4.4-ДДТ.

Поскольку масса ХОП, представленных в растительной ткани, зависит от сухого веса биомассы, масса пестицидов в тканях растения, выращенных в присутствии Tween 20 в большинстве случаев не отличалось существенно от контрольных показателей, несмотря на статистически достоверную (значимую) разницу в концентрациях. Общее накопление ХОП (за исключением эндосульфана сульфата для Tween 20) уменьшилось при внесении почвенных добавок в систему «почва-растение».

Как правило, распределение ХОП в тканях *M. sinensis* хорошо коррелирует с коэффициентами гидрофобности ( $\log K_{ow}$ ): с увеличением гидрофобности ХОП количество поглощения уменьшалось. Однако эта тенденция не была доказана (Рисунок 18) для двух веществ: 2,4-ДДД и  $\beta$ -ГХЦГ. Среди группы циклодиенов эндрин имеет равные значения  $M_r$  и  $\log K_{ow}$  с дильдрином, их  $M_r$  выше, чем  $M_r$  альдрина, в то же время коэффициенты гидрофобности ниже. Эти свойства могут быть причиной того, что количество эндрина в биомассе было меньше по сравнению с альдрином, даже прогнозировалась обратная тенденция (Рисунок 18).

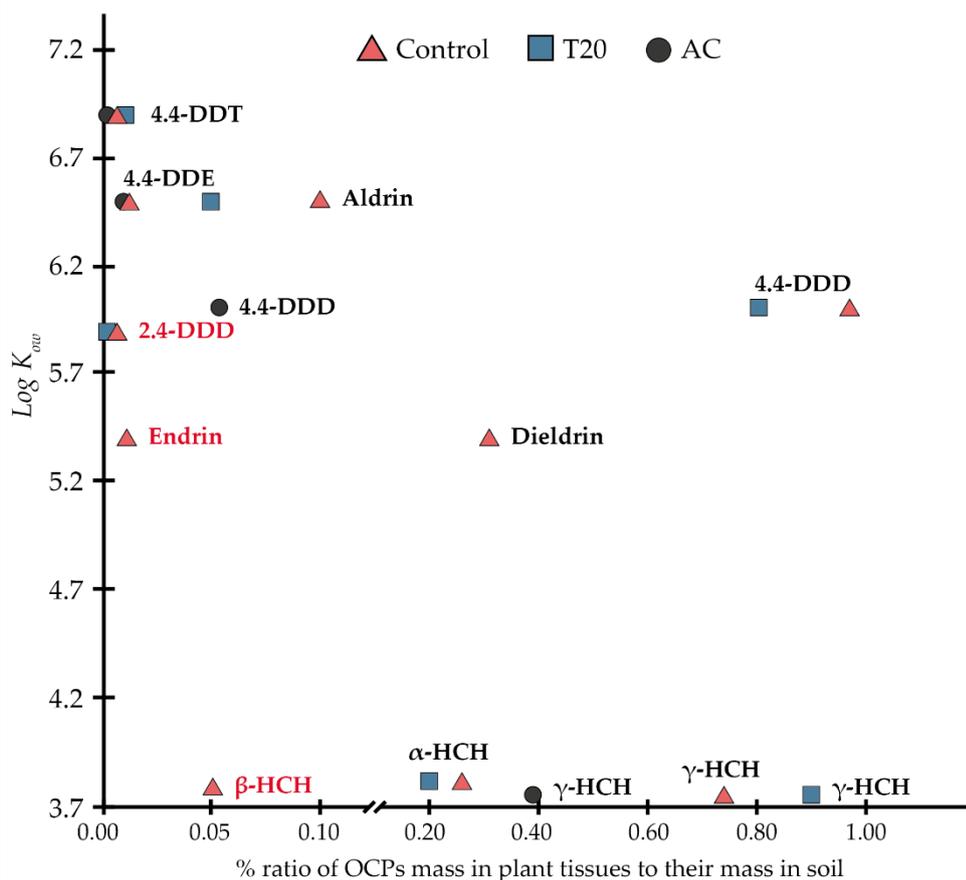


Рисунок 18 - Корреляция между значениями  $\log K_{ow}$  и %-ным отношением массы ХОП в тканях растений к массе ХОП в исследуемых почвах

Таким образом, наше исследование демонстрирует, что внесение изменений в загрязненную почву с помощью Tween 20 или АУ значительно влияет на фиторемедиацию ХОП. Tween 20 помогает преодолеть низкую биодоступность

ХОП в почве за счет снижения их гидрофобности и, таким образом, увеличивает поглощение и аккумуляцию ХОП в корнях растений. Соответственно, сообщалось, что Tween 20 полезен для усиления поглощения корнями природных низкомолекулярных органических кислот. Более того, Tween 20 вызывает удлинение корней и увеличение высоты растений *M. sinensis*, оказывает благотворное влияние на общее восстановление загрязненной почвы за счет повышения фитодоступности ХОП. С другой стороны, содержание пигментов хлорофилла в листьях снизилось, что может быть связано с повышенными условиями стресса: Tween 20 увеличил биодоступность ХОП и, как следствие, негативно повлиял на развитие растения. Это было подтверждено особенностями сухого веса НЗБ, который не увеличился, как предвиделось, вследствие увеличения высоты растения.

Корреляция между коэффициентом гидрофобности и количеством ХОП, представленных в тканях растений, наблюдается для основных исследованных ХОП (Рисунок 18), однако она не справедлива для 2.4-DDD, эндрина и  $\beta$ -ГХЦГ, количество поглощения биомассой которых должно было быть выше, чем для  $\alpha$ -ГХЦГ, но меньше, чем для  $\gamma$ -ГХЦГ. Предположительно, небольшое количество 2.4-DDD в массе растения может быть обусловлено его промежуточным состоянием при образовании основного выделяемого продукта 2,2-бис(4-хлорфенил)-уксусной кислоты в пути анаэробной деградации ДДТ [220]. Отсутствие корреляции для 2.4-DDD может быть дополнительно объяснено метаболически активированными свойствами этого соединения и возможным распадом во время транслокации на два метаболита: о.p'-DDA (1,1-(о.p'-дихлордифенил)уксусная кислота) и о.p'-DDE (1,1-(о.p'-дихлордифенил)-2,2-дихлорэтен) [221]. Чтобы объяснить отсутствие корреляции для  $\beta$ -ГХЦГ, необходимо учитывать значение коэффициента разделения октанола и воздуха ( $K_{OA}$ ).  $K_{OA}$  используется для объяснения поведения органических соединений между воздухом и матрицами окружающей среды, такими как почва, растительность и аэрозольные частицы; в нашем случае  $K_{OA}$  для  $\beta$ -ГХЦГ равно 8.7, а для  $\alpha$ -ГХЦГ – 7.5. Gobas et al. [222] отметили, что загрязнители с низким значением  $\log K_{ow}$  и высоким значением  $K_{OA}$  (случай  $\beta$ -ГХЦГ) не показали потенциала биоаккумуляции. Эндрин является стереоизомером дильдрина, и имеет относительно короткий период полураспада в окружающей среде и быстрый метаболизм в живых организмах; его накопление в живых организмах очень низкое по сравнению с соединениями с аналогичной химической структурой [46]. Эти свойства эндрина могут объяснить его ограниченное количество в тканях *M. sinensis* в сравнении с дильдрином и отсутствие корреляции.

Обработка загрязненной почвы АУ снизила биодоступность ХОП, однако необходимо более подробное исследование для выяснения различий в поглощении между ХОП и их метаболитами во время процесса фиторемедиации у *M. sinensis*. В группе ДДТ и его метаболитов необычное поведение было исследовано для 4.4-ДДЭ: содержание этого соединения в тканях *M. sinensis* увеличивалось с уменьшением транслокационной активности. Это наблюдение показало, что АУ повысил потенциал фитостабилизации *M. sinensis* в отношении

4.4-ДДЭ; в сравнении с другими пестицидами из этой группы АУ действовал как изолирующий агент, стимулировал увеличение доли неэкстрагируемой фракции и уменьшал долю лабильных фракций ХОП, представленных в почве, о подобных особенностях сообщили Abou Jaoude et al. [223].

### Заключение

*M. sinensis* обладал способностью удовлетворительно расти в загрязненной почве и накапливать все ХОП, присутствующие в почве, в тканях растения. Уровень транслокации ХОП в растение определялся степенью гидрофобности пестицида, молекулярной массой и концентрациями в почве; преимущественно ХОП накапливались в корнях. В результате исследований выявлено три разных поведения *M. sinensis* по поглощению и аккумуляции ХОП: 1) фитостабилизирует 4.4-ДДЭ, дикофол и хлордан; 2) фитоэкстрагирует  $\beta$ -ГХЦГ,  $\gamma$ -ГХЦГ) и гептахлор; 3) аккумулирует 4.4-ДДТ, метоксихлор, альдрин, дильдрин, эндосульфат  $\beta$ , эндосульфат сульфат и эндрин альдегид в равной степени в НЗБ и корнях.

Внесение удобрений в почву Tween 20 улучшило динамику роста *M. sinensis*, увеличило длину и уменьшило сухой вес корней. Содержание пигментов хлорофилла указывало на то, что когда мискантус рос в почве, обработанной Tween 20, концентрация пигментов снижалась; добавление АУ в почву приводило к увеличению этих параметров у растения. Включение Tween 20 снижает гидрофобность ХОП и улучшает потенциал фиторемедиации *M. sinensis*: миграция большинства (23 из 24 наименований ХОП) из корневой системы в НЗБ ингибировалась, т.е активировался процесс фитостабилизации, с одним исключением по отношению к  $\alpha$ -ГХЦГ – он был найден только в НЗБ. Внесение Tween 20 в почву увеличивало общее поглощение 10 и фитостабилизацию 14 из 15 ХОП, биоконцентрируемых в тканях *M. sinensis*: альдрин в 2.2 и 10.4 раза, хлордана – в 1.4 и 6.0 раза, дильдрин – в 2.2 и 11.3 раза, эндосульфана  $\beta$  – в 1.8 и 6.1 раза, эндосульфат сульфата – в 2.5 и 8.2 раза, эндрин альдегида – в 2.3 и 10.1 раза, гептахлора – в 1.3 и 8.5 раза, гексабромбензена – в 1.3 и 16.0 раза, метоксихлора – в 1.2 и 13.6 раза, 4.4-ДДТ – в 2.1 и 17.5 раза, и 4.4-ДДЭ – в 1.6 и 3.9 раза, соответственно. Общее накопление ГХБ,  $\beta$ -ГХЦГ и  $\gamma$ -ГХЦГ снижалось в присутствии Tween 20 (в 2.7, 1.3 и 23.1 раза, соответственно), однако фитостабилизация увеличивалась (в 7.1, 12.6 и 278 раз, соответственно). Только поглощение дикофола (кельтан) и его миграция в НЗБ не прямо пропорционально отличается от поведения других ХОП: общая аккумуляция снижается в 3.7 раз, а миграция в НЗБ увеличивается в 2.2 раза, т.е. Tween 20 активизирует фитоэкстракцию дикофола.

Обработка загрязненной почвы АУ увеличила динамику роста *M. sinensis*, однако эффект был слабее по сравнению с обработкой почвы Tween 20. Добавление АУ отрицательно сказалось на сухом весе и длине корней. Присутствие АУ существенно уменьшило поглощение ХОП из загрязненной почвы и инициировало процесс фитостабилизации для 21 ХОП из 24, за исключением хлордана, чья миграция в НЗБ *M. sinensis* увеличивалась в 1.8 раз, а также альдрин и хлорбензилата, чья транслокация внутри растения не

подверглась влиянию АУ. Помимо усиления фитостабилизационного потенциала исследуемого растения, АУ также снижает общее поглощение ХОП: альдрин - в 1.6 раз, хлордан - в 3.0 раз, дильдрин – в 1.6 раз, эндосульфан  $\beta$  – в 1.1 раза, эндосульфан сульфат – в 1.4 раза, эндрин альдегид – в 1.5 раз, ГХБ – в 3.0 раз, гептахлора – в 1.4 раза, гексабромбензена – в 2.0 раза, метоксихлора – в 1.5 раз,  $\beta$ -ГХЦГ – в 2.4 раз,  $\gamma$ -ГХЦГ – в 23.1 раз, и 4.4-ДДТ – в 1.4 раза. Усиление фитостабилизационного потенциала варьировался в диапазоне от 1.9 до 115 раз. Интересная тенденция наблюдается для дикофола: при внесении Tween 20 его общее накопление снижается, а при внесении АУ – увеличивается (в 1.5 раза), хотя ожидалось обратное. Также зафиксировано увеличение аккумуляции 4.4-ДДЭ (в 1.2 раза). Таким образом, АУ может быть эффективно использован для выращивания *M. sinensis* на загрязненных ХОП пестицидами для получения чистой биомассы для преобразования в биопродукты.

Также, можно заключить, что *M. sinensis* не обладает фиторемедиационным потенциалом для очищения почв от хлоробензилата, дибутил хлорэндата, эндосульфана  $\alpha$ , эндрина, гептахлор эпоксида,  $\alpha$ -ГХЦГ,  $\delta$ -ГХЦГ, 2.4-ДДД и 4.4-ДДД вне зависимости от внесения почвенных добавок.

3.4.2 Влияние изолированной бактерии на фиторемедиационный потенциал и урожайность биомассы *M. × giganteus*, произрастающего на исторически загрязненной ТМЭ почве

Энергетическая культура второго поколения *M. × giganteus* является перспективным растением для фиторемедиации загрязненных земель и производства биомассы. Биомасса отличного качества может быть обеспечена путем внесения удобрений в почву или инокуляцией растений РГРВ. Основной целью настоящего исследования было изучение влияния штамма РГРВ *Bacillus altitudinis* КР-14, выделенного из загрязненной почвы после добычи полезных ископаемых на свалке Všebořice (Усти-над-Лабем, Чешская Республика) на параметры фиторемедиации и производство биомассы *M. × giganteus*. Эксперимент проводился в тепличных условиях с использованием исходной почвы, загрязненной следующими ТМЭ: V, Cr, Mn, Ni, Cu, Zn, Sr, Pb, и такой же почвы, дополнительно искусственно загрязненной Pb.

*Влияние бактериализации на физиологические показатели растений.* Биологические параметры *M. × giganteus* при бактериализации корневищ оценивали во время его роста в системах «почва-растение» (ПР) и «почва-растение-микроорганизм» (ПРМ). Штамм РГРВ *B. altitudinis* КР-14 показал значительное влияние на рост растений, включая как и НЗБ (листья и стебли), так и биомассу корней на 49% ( $p < 0.001$ ), 86% ( $p < 0.001$ ) и 76% ( $p < 0.001$ ), соответственно (Рисунок 19).

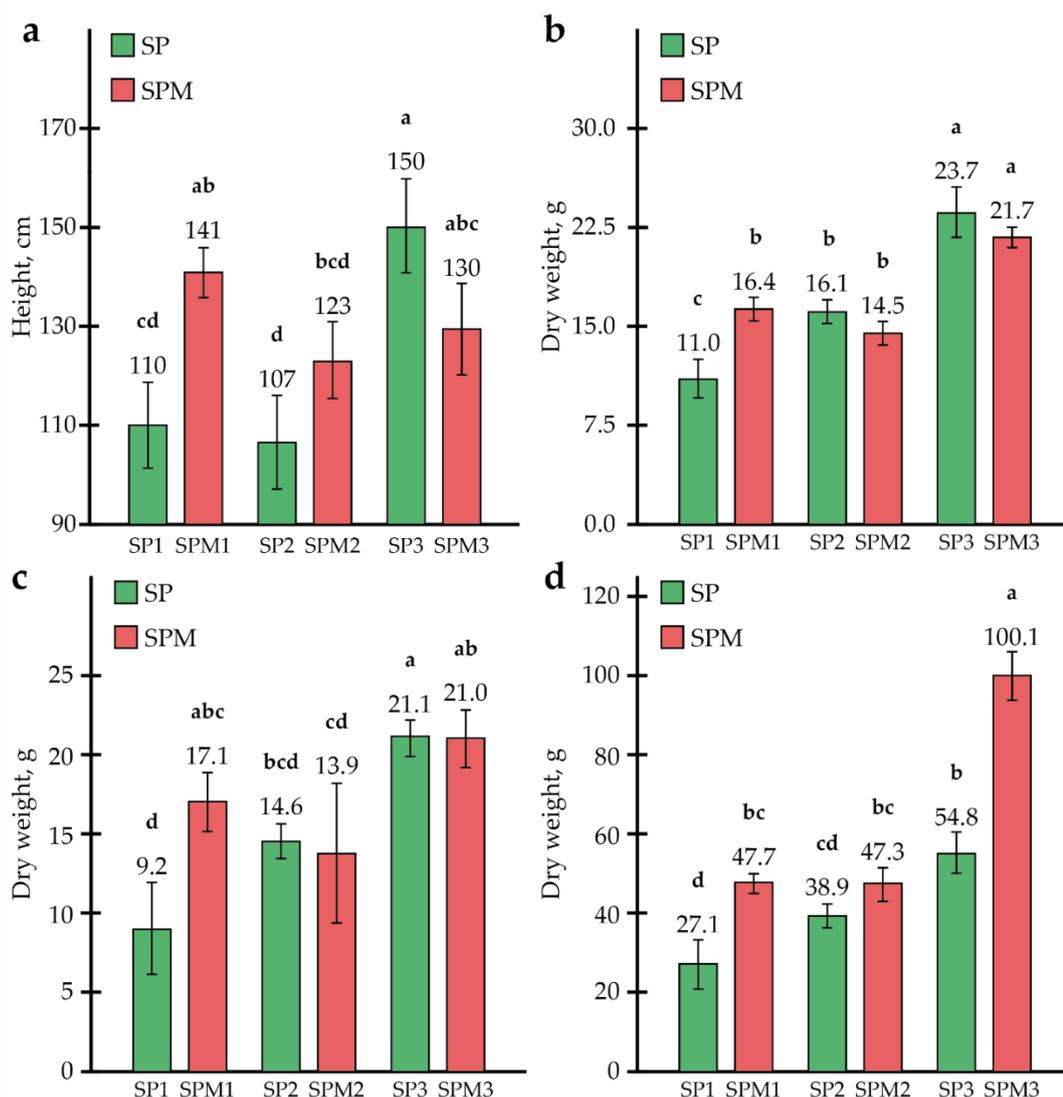


Рисунок 19 – Ростовые параметры *M. × giganteus*, выращенного в искусственно загрязненной Pb почве, в присутствии PGPB. а) высота растений; б) сухой вес листьев; в) сухой вес стеблей; и г) сухой вес корней. Разные буквы в пределах одного параметра указывают на статистически достоверную разницу

В почвах с искусственными концентрациями Pb (ПРМ2 и ПРМ3) было зарегистрировано увеличение сухого веса корней в системах ПРМ ( $p < 0.001$ ). Это привело к увеличению адсорбционной поверхности. Увеличение площади поверхности корней улучшает усвоение растением питательных веществ, что является одним из показателей защитной функции живого организма. Таким образом, штамм *B. altitudinis* КР-14 способствует росту и развитию *M. × giganteus* в почвах, искусственно загрязненных высокими концентрациями Pb.

*Влияние PGPB на фиторемедиационный потенциал M. × giganteus.* Восемь ТМЭ были определены в почве Všebořice (Таблица 9). V, Cr, Ni, Zn и Sr были обнаружены в концентрациях, превышающих ПДК Чешской Республики [212]. Mn, Cu, Zn, Sr и Pb были обнаружены в тканях растений, а V, Cr и Ni не были (Таблица 12). Самая высокая концентрация ТМЭ была обнаружена в корнях, что

является нормальным явлением для *M. × giganteus* [77,112]. Это явление наблюдается как в системах ПР, так и в системах ПРМ.

Динамика поглощения Рb корнями *M. × giganteus* коррелировала с увеличением содержания Рb в искусственных почвах. В системе ПР1 общее поглощение Рb составляло 81.1 мкг, из которых 14.3 мкг находилось в листьях и стеблях. В системе ПРМ1 общее поглощение Рb увеличилось на 67.4% ( $p < 0.001$ ) и достигло 135.8 мкг. Наибольшая, однако статистически не достоверная, разница наблюдалась в увеличении накопления в стеблях (на 120%) ( $p > 0.05$ ), тогда как для листьев и корней накопление увеличилось только на 29.7% ( $p > 0.05$ ) и 74.9% ( $p > 0.05$ ), соответственно. Однако бактериализация корневищ уменьшила транслокацию Рb в надземную биомассу: TLF снизился с 0.21 до 0.16. Сравнение систем ПР2 и ПРМ2 показало, что в системе ПРМ2 снижение накопления Рb в листьях и стеблях составило 12.7% ( $p > 0.05$ ) и 33.2% ( $p > 0.05$ ) соответственно. Накопление Рb в корнях увеличилось на 260.2% ( $p > 0.05$ ). Сравнение между системами ПР3 и ПРМ3 показало, что в системе ПРМ3 увеличение накопления Рb в листьях было незначительным (на 7,4%) ( $p > 0.05$ ), тогда как снижение накопления в стеблях на 28.1% ( $p < 0.01$ ) и в корнях на 199.8% ( $p < 0.001$ ) было значительным. Введение штамма *B. altitudinis* КР-14 в загрязненную систему «почва-растение» (системы ПРМ) усилило потенциал фитостабилизации *M. × giganteus*, что отражается в увеличении значений VCF и снижении значений TLF.

Когда растение выращивали в системе ПР1, наибольшее накопление ТМЭ было обнаружено в корнях (за исключением Mn и Sr), в то время как накопление в листьях и стеблях было ниже. Когда растение выращивалось в системах ПРМ2 и ПРМ3, накопление ТМЭ в стеблях уменьшилось (на 13.5-33.2%, соответственно), а накопление в листьях немного увеличилось (на 1.1-14.9%, соответственно). Таким образом, с увеличением концентрации Рb в почве *M. × giganteus* проявлял фитостабилизирующую активность. В присутствии штамма *B. altitudinis* КР-14 (система ПРМ1), увеличение общего накопления состояния было почти одинаковым и варьировалось от 60.1% до 67.4%, соответственно. С увеличением концентрации Рb в искусственно загрязненных почвах (системах ПРМ) адсорбция ТМЭ имела ту же тенденцию. Однако тенденция была противоположной для Mn, где наблюдалось отчетливое снижение поглощения и перемещения в стебли и листья.

Таблица 12 - Концентрация ТМЭ, аккумулированных в тканях *M. × giganteus*, выращенных на загрязненных почвах

ТМЭ	Орган	Концентрация ТМЭ в тканях <i>M. × giganteus</i> , мг кг <sup>-1</sup>											
		ПР1		ПРМ1		ПР2		ПРМ2		ПР3		ПРМ3	
		Mean	± SD	Mean	± SD	Mean	± SD	Mean	± SD	Mean	± SD	Mean	± SD
Mn	Л	1254.8	7.1	1103.7	5.4	1017.0	5.8	1173.2	6.4	770.5	4.8	825.4	5.1
	С	364.6	1.5	521.6	1.6	544.9	2.0	487.7	1.6	306.8	1.1	255.8	1.0
	К	323.6	4.1	313.6	3.3	296.6	3.9	285.4	4.2	197.1	2.8	214.6	4.2
Cu	Л	2.4	0.3	2.6	0.3	1.8	0.3	1.9	0.3	2.5	0.3	2.8	0.3
	С	0.6	0.1	0.8	0.1	1.1	0.1	0.9	0.1	0.9	0.1	0.7	0.0
	К	11.0	0.7	10.0	0.5	11.3	0.7	13.1	0.8	7.7	0.5	11.0	0.8
Zn	Л	41.7	0.5	47.4	0.5	43.9	0.5	49.2	0.6	49.7	0.5	60.0	0.6
	С	24.5	0.2	36.4	0.2	44.4	0.2	39.4	0.2	22.4	0.1	30.3	0.1
	К	170.5	1.3	152.5	1.0	107.3	1.0	96.4	1.1	121.0	0.9	102.1	1.2
Sr	Л	62.3	0.5	60.0	0.4	56.9	0.4	72.4	0.5	55.9	0.4	64.1	0.4
	С	6.2	0.1	8.3	0.1	12.3	0.1	14.0	0.1	7.9	0.1	6.9	0.0
	К	27.1	0.5	27.4	0.4	35.7	0.5	51.5	0.6	23.9	0.3	42.3	0.6
Pb	Л	1.3	0.3	1.1	0.3	4.0	0.3	3.8	0.3	52.5	0.5	61.5	0.6
	С	0.1	0.0	0.1	0.0	2.5	0.1	1.8	0.1	14.2	0.1	11.8	0.1
	К	2.5	0.4	2.5	0.3	24.6	0.6	25.9	0.7	81.4	0.8	133.6	1.3

Полученные данные были сопоставлены для двух систем: ПР и ПРМ. В системах ПР, ПР1 был взят в качестве элемента управления, и аналогично ПРМ1 представлял элемент управления в системах ПРМ. В системе ПР2 накопление Zn, Cu, Mn и Sr в корнях уменьшилось. И наоборот, только Cu и Zn показали уменьшение в тканях растений. Для системы ПР2 накопление теста в стеблях является значительным. Zn, Cu, Mn и Sr показали увеличение на 187% ( $p < 0.001$ ), 180% ( $p < 0.001$ ), 137% ( $p < 0.001$ ) и 217% ( $p < 0.001$ ), соответственно. В системе ПРМ2 снижение накопления Zn и Mn в корнях, по оценкам, составило 37% ( $p < 0.01$ ) и 10% ( $p < 0.05$ ), соответственно.

Поведение Zn в системе ПР2 варьировалось следующим образом. Количество Zn увеличилось на 54% в листьях ( $p < 0.001$ ), на 187% в стеблях ( $p < 0.001$ ) и уменьшилось на 68% в корнях ( $p < 0.05$ ). В системе ПР3 общее количество Zn увеличилось во всех частях растения. Листья, стебли и корни показали увеличение на 157% ( $p < 0,001$ ), 110% ( $p < 0,05$ ) и 43% ( $p < 0,001$ ) соответственно. В системе ПРМ2 накопление Zn уменьшилось. Он снизился на 8% ( $p > 0,05$ ), 12% ( $p > 0,05$ ) и 37% ( $p < 0,01$ ) в листьях, стеблях и корнях соответственно. Напротив, в системе ПРМ3 накопление Zn увеличилось на 68% ( $p < 0,001$ ) в листьях, на 2% ( $p > 0,05$ ) в стеблях, на 41% ( $p < 0,001$ ) в корнях. Анализируя поведение Zn во всех системах, наблюдалась отчетливая закономерность с увеличением концентрации Pb. Общее поглощение Zn снизилось на 46% ( $p < 0,05$ ) и 33% ( $p < 0,05$ ) для систем ПР2 и ПРМ2 соответственно по сравнению с системами ПР1 и ПРМ1. И наоборот, это число увеличилось на 56% ( $p < 0,001$ ) и 40% ( $p < 0,001$ ) в системах ПР3 и ПРМ3.

В обеих системах Cu в основном накапливается в корнях. В системах ПР, которые характеризуются увеличением концентрации Pb в почве, основное увеличение накопления Cu было обнаружено в стеблях. В системе ПР2 увеличение составило 180% ( $p < 0,001$ ), тогда как в системе ПР3 Cu увеличился на 225% ( $p < 0,001$ ). В системах ПРМ основной прирост наблюдался в корнях. В системах ПРМ2 и ПРМ3 увеличение составило 31% ( $p > 0,05$ ) и 131% ( $p < 0,001$ ) соответственно. В системах ПР, в которых наблюдается увеличение концентрации Pb в почве, процент накопления Cu увеличился с 10% до 22% соответственно. В системах ПРМ процент накопления Cu снизился на 11% и 6% в листьях и стеблях соответственно. Это сокращение было обусловлено введением штамма *V. altitudinis* КР-14.

Mn в основном накапливается в надземной биомассе. В системе ПР1 листья содержали 53% Mn по сравнению с 58% в системе ПР2 и 51% в системе ПР3. В системах ПР с увеличением концентрации Pb в почве накопление Mn в основном увеличивалось в стеблях на 137% ( $p < 0,001$ ) и 93% ( $p < 0,05$ ) соответственно. И наоборот, накопление в листьях увеличилось на 19% ( $p > 0,05$ ) и 32% ( $p < 0,01$ ) соответственно. В системе ПР2 поглощение корнями снизилось на 53% ( $p < 0,05$ ), в то время как в системе ПР3 это значение увеличилось на 23% ( $p > 0,05$ ). В системах ПРМ процент накопления Mn в листьях снизился соответственно на 10% ( $p < 0,001$ ), 8% ( $p > 0,05$ ) и 11% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с системами ПР. В системах ПРМ с увеличением концентрации Pb в почве накопление Mn в листьях

оставалось почти неизменным (43%, 46% и 40% для систем ПРМ1, ПРМ2 и ПРМ3 соответственно). Альтернативно, накопление Mn в стеблях последовательно снижалось с 21% до 12% ( $p > 0,05$ ) по сравнению с общим количеством Mn, обнаруженным в тканях растений.

Накопление Sr в надземной биомассе и корнях было почти одинаковым как для систем ПР, так и для систем ПРМ. Sr и Cu демонстрировали следующее поведение. В системах ПР наибольшее накопление Sr было обнаружено в стеблях (увеличение на 217% ( $p < 0,001$ ) и 193% ( $p < 0,001$ ) соответственно). В качестве альтернативы, в системах ПРМ корни продемонстрировали наибольшее накопление (увеличение на 87% ( $p < 0,001$ ) и 225% ( $p < 0,001$ ) соответственно). В системах ПР Sr накапливается преимущественно в листьях и стеблях. Кроме того, с увеличением концентрации Pb в почве содержание Sr в листьях и стеблях увеличилось с 46% до 58% ( $p < 0,001$ ) и с 4% до 11% ( $p < 0,001$ ) соответственно. В системах ПРМ накопление Sr в листьях и стеблях последовательно снижалось с 40% до 24% ( $p < 0,001$ ) и с 6% до 2% ( $p > 0,05$ ) соответственно. И наоборот, поглощение Sr в общей биомассе растения увеличилось на 64% ( $p < 0,001$ ), 131% ( $p < 0,001$ ) и 106% ( $p < 0,001$ ) в системах ПР1, ПР2 и ПР3 соответственно. Этот рост происходит с увеличением концентрации Pb в почвах.

Поведение ТМЭ в не привитых и инокулированных корневищах штамма RGPB *B. altitudinis* KP-14 оценивали наряду с влиянием выбранного штамма микроорганизмов на накопление и поглощение ТМЭ. Ni, Sr и V были обнаружены в почве (Таблица 7), однако не были обнаружены в тканях растения, что может быть связано с их ограниченной биодоступностью. Согласно Kӱrper и Kropesck [224], только 1% Ni является биодоступным для растений. Sr также ограниченно доступен для растений, хотя подкисление почвы может увеличить его биодоступность [225]. Teng et al. [226] изучили поведение V в почве, загрязненной добычей полезных ископаемых, и обнаружили, что количество извлекаемого (растворимого в кислоте) V ограничено 0,3–1,9%.

Потенциал различных растений к фитостабилизации или фитоэкстракции оценивается на основе расчета TLF: отношения общей концентрации ТМЭ в надземной биомассе растения к концентрации того же элемента в корнях [205,227]. На основе значения TLF можно определить экстракционный потенциал растительного организма или роль корней в иммобилизации металлов [205]. С помощью TLF, растения классифицируются как аккумуляторы ( $TLF > 1$ ) или исключают (TLF < 1) [227].

Результаты текущего исследования показали уменьшение миграции Pb, а также других ТМЭ: Zn, Cu, Sr, Mn в системе “почва-корни-НЗБ” как для систем ПР, так и для систем ПРМ, что указывает на их преимущественное накопление в корневых системах. Более того, рассчитанные значения BCF составляют <1 для всех случаев, что указывает на то, что *M. × giganteus* накапливал ТМЭ в основном в корневых системах. Однако некоторые ТМЭ были обнаружены в ограниченных концентрациях в вышеуказанной части биомассы, что может быть связано с важностью этих элементов в развитии растения. Более очевидно, что регулирование поступления ТМЭ в растение с помощью микроорганизмов является основной стратегией преодоления экологических последствий

загрязнения почвы [154]. *M. × giganteus* не показал гипераккумуляции ТМЭ, тогда как в исследовании Garcia et al. [228] трава *Piptatherum miliaceum* показала гипераккумуляцию Pb и Zn. Результаты текущего исследования показали, что прививка введение штамма *B. altitudinis* КР-14 в систему «почва-растение» увеличивало подвижность ТМЭ и усиливало их поглощение независимо от природы, однако не приводило к гипераккумуляции. Нисходящую последовательность ТМЭ, связанную с увеличением BCF при инокуляции корневищ, можно представить следующим образом: Cu, Pb > Sr > Zn > Mn. Несмотря на увеличение значений BCF в присутствии микробов, процент поглощения ТМЭ оставался низким. Наименьшее снижение BCF наблюдалось для Mn; следовательно, его накопление было почти одинаковым в обеих системах (ПР и ПРМ). Это указывает на потребность Mn в качестве питательного вещества во время *M. × giganteus*.

Значение TLF отражает способность ТМЭ мигрировать от корней растения к надземной биомассе. Внесение микроорганизма в почву уменьшило перемещение тотализаторов из корневой системы в листья и стебли. Наибольшее снижение было отмечено для Sr (на 72%), а наименьшее снижение наблюдалось для Zn (на 47%). Ряд в уменьшении миграции ТМЭ из-за инокуляции микробом может быть представлен следующим образом: Sr > Cu > Mn > Pb > Zn. В системах ПРМ миграция Mn и Sr обратно коррелировала с увеличением концентрации Pb в почве.

Анализируя данные о поведении Zn в системах ПР и ПРМ, можно сделать вывод, что *M. × giganteus* предпочтительно накапливал Zn в корнях. Кроме того, с увеличением концентрации Pb в почве количество Zn в листьях и стеблях увеличилось с 13% до 20% от общего количества для не привитого растения. В присутствии микроорганизмов количество Zn в листьях и стеблях при различных концентрациях Pb в почве увеличилось с 16% до 22%, в то время как количество Zn в корнях в той же системе уменьшилось на 25,4% с увеличением содержания Pb в корнях. Аналогичная тенденция была отмечена Han et al. [229], когда саженец *Iris halophila* выращивали в хвостохранилищах рудника Pb с ограниченными фоновыми концентрациями Zn и Cu в присутствии EDTA. Результаты показали, что увеличение концентрации Pb в почве привело к снижению концентрации Zn и Cu в корнях.

В системах ПР, в которых наблюдается увеличение концентрации Pb в почве, *M. × giganteus* накапливает Cu в стеблях. И наоборот, в системах ПРМ, которые характеризуются увеличением концентрации Pb в почве, количество Cu, накопленного в стеблях, оставалось почти постоянным (2%, 8% и 4%). Микроорганизм усиливал поглощение и потенциал фитостабилизации *M. × giganteus* Cu с увеличением концентрации Pb в почве. В системе ПРМ1 увеличение составляет 60% ( $p < 0,001$ ) и 58% ( $p < 0,001$ ), в системе ПРМ2 увеличение составляет 238% ( $p < 0,001$ ) и 295% ( $p < 0,001$ ), а в системе ПРМ3 увеличение составляет 136% ( $p < 0,001$ ) и 161% ( $p < 0,001$ ) соответственно. Что касается Mn, то примерно 66-86% от общего количества Mn, представленного в тканях растений, находилось в листьях и стеблях. Инокуляция штаммом *B. altitudinis* КР-14 усиливала общее поглощение Mn, но с увеличением

концентрации Pb в почве этот эффект уменьшался (с 62% до 26% ( $p < 0,05$ )). Присутствие микроорганизмов способствовало уменьшению накопления Mn в листьях и стеблях (с 64% до 52%). Следовательно, можно сделать вывод, что штамм *B. altitudinis* КР-14 сыграл жизненно важную роль в равномерном распределении Mn в биомассе *M. × giganteus*. Существенное поглощение Mn из корней в вышеуказанную часть растительного организма может быть связано с тем фактом, что Mn является необходимым биологически активным элементом для развития растений. Mn наряду с Cu и Zn участвует в каталитическом усилении биохимических процессов. В нашем случае значение TLF для Mn было выше 1, в то же время в системе ПРМ значение этого параметра уменьшилось, что гарантировало, что бактериализация КР-14 способствовала общему снижению этого коэффициента. Более того, эффект фитостабилизации сильнее для системы ПРМ.

Сравнивая данные текущего исследования по поглощению ТМЭ *M. × giganteus* с опубликованными результатами [112], можно сделать вывод, что поведение ТМЭ аналогично для обеих исследовательских систем, тем не менее, концентрации исходных ТМЭ в почвах были разными. Это сравнение подтвердило, что *M. × giganteus*, выращенный на почве, загрязненной ТМЭ, показал предпочтительный эффект фитостабилизации.

Поглощение и накопление Sr отличаются от других исследованных ТТЕ. Точнее, в системах ПР *M. × giganteus* содержал Sr в равных количествах в наземной и корневой биомассе, а накопление Sr в листьях и стеблях составляло от 50% до 69% от его общего содержания. Кроме того, бактериализация повысила потенциал фитостабилизации *M. × giganteus*, при этом Sr снизил его накопление в листьях и стеблях с 46% до 27% от его общего содержания в биомассе.

В последнее время использование РГРВ (*Pseudomonas*, *Bacillus* и других) появилось в качестве обнадеживающего подхода в процессе смягчения последствий толерантности к ТМЭ [161,162]. Переносимость ТМЭ включает в себя некоторые стандартные механизмы, такие как превращение металлов в биодоступную и растворимую форму или производство сидерофоров. РГРВ может изменять способность к накоплению ТМЭ и трансмиграции в растения благодаря их многочисленным свойствам РГР, тем самым уменьшая фитотоксичность элементов и изменяя фитодоступность в загрязненных почвах [230]. Кроме того, РГРВ обладает потенциалом для получения органических кислот (сопровождающихся снижением pH) и специфических лигандов ТМЭ (например, сидерофоров), что может привести к улучшению потенциала фитоэкстракции элементов растений-хозяев [161,231].

Irek et al. [232] изучали влияние РГРВ на усвоение ТМЭ растениями земляники, растущими на известковой почве с дефицитом Mn, Zn и Cu. Было замечено, что РГРВ усиливает поглощение исследуемых элементов за счет снижения pH почвы, и последовательность поглощения была следующей:  $Mn > Zn > Cu$ . Аналогичный вывод был подтвержден Gullap et al. [233] при применении штамма РГРВ *Bacillus megaterium* var. *Phosphaticum* увеличивал доступность Mn и Cu в почвах и поглощение луговыми растениями. В случае Mn поглощение было примерно в 4 раза выше, чем для Cu во время осенней и

весенней вегетации. Используя значения BCF, в текущем исследовании была обнаружена следующая последовательность влияния бактеризации корневища *M. × giganteus* на увеличение поглощения ТМЭ из исходной почвы: Mn (увеличение на 103%) > Zn (увеличение на 65%) > Sr, Pb (увеличение на 50%) > Cu (увеличение на 40%).

Zn является важным микроэлементом для растений и играет жизненно важную роль в метаболизме растений. Концентрация этого элемента в естественной почве варьировалась в пределах 17-160 мг кг<sup>-1</sup>. Однако при более высоких концентрациях Zn проявляет токсическое действие, препятствуя росту растений, балансу питательных веществ и фотосинтезу [234]. Высокое накопление Zn наблюдалось у *M. × giganteus*, культивируемого в почве, загрязненной ТМЭ, что было вызвано дефицитом макроэлементов почвы, низким pH и отсутствием ключевых компонентов для фотосинтеза. Влияние бактеризации растений на поведение Zn отличалось от других ТМЭ. Kang et al. [235] обнаружили, что поглощение Zn незасеянными растениями *Brassica rapa* было выше по сравнению с инокулированными растениями PGPB *Burkholderia cepacia* CS21: бактеризированные растения накапливали меньше (22%) Zn. В исследовании Ma et al. [160] использование бактерий *Psychrobacter* sp. SRS8 и *Pseudomonas* sp. A3R3, выделенных из почвы серпентина, привело к значительному влиянию на рост растений *Brassica juncea* и *Ricinus communis*, а также транслокацию и накопление Ni, Zn и Fe. Они сообщили о значительном снижении значений TLF Zn у обоих инокулированных видов растений. В настоящем исследовании была обнаружена аналогичная тенденция для значения TLF Zn (на 47% меньше в бактеризированном растении), который является наименее перемещаемым элементом в надземную биомассу *M. × giganteus* по сравнению с другими изученными ТМЭ. Порядок убывания значений TLF для исследуемых ТМЭ, полученных в текущем исследовании, аналогичен результатам, полученным другими авторами. Babu et al. [161] исследовали потенциальную роль PGPB *Pseudomonas koreensis* AGB-1 в ассоциации с *M. sinensis* и обнаружили, что транслокация Pb в надземную биомассу растения была выше, чем у Zn в растениях, обработанных PGPB. Аналогичным образом, Hassan et al. [156] сообщили о снижении TLF для различных ТМЭ, когда PGPB применяли к пшенице, растущей на загрязненной ТМЭ содовой почве. Когда совместную инокуляцию PGPB сочетали с обработкой биоудобрениями, было получено дополнительное снижение поглощения Pb на 40% по сравнению с однократной инокуляцией. Инокуляция *Pseudomonas moraviensis* снизила BCF, а также TLF для Cu, Mn и Ni. В нашем исследовании бактеризация *M. × giganteus* с помощью *B. altitudinis* KP-14 снизил TLF в случае Mn, Sr, Pb, и эта тенденция наблюдается как для исходной почвы, так и для почв, искусственно загрязненных Pb. В случае Zn и Cu бактеризация в некоторой степени увеличила TLF в исходной почве и уменьшила TLF для искусственно загрязненных почв с обеими концентрациями Pb (ППМ2 и ППМ3) Аналогичная картина наблюдалась для Mn и Sr Hassan et al. [156].

### Заключение

Применение штамма RGPB *B. altitudinis* КР-14 значительно улучшило биопараметры *M. × giganteus*, культивируемого на почве, загрязненной ТМЭ, и повлияло на параметры фиторемедиации: увеличило BCF и уменьшило TLF. Биомасса корней *M. × giganteus* увеличивалась с увеличением концентрации Pb для борьбы с токсичностью Pb в почве. Внесение штамма *B. altitudinis* КР-14 в систему «почва-растение» в некоторой степени увеличило подвижность ТМЭ в почве, однако произошедший процесс фиторемедиации все еще можно охарактеризовать как фитостабилизацию. Что касается накопления приоритетных мест, ТМЭ были разделены на три группы: Pb, Zn и Cu преимущественно накапливались в корнях; распределение Sr было почти одинаковым по частям растения, а Mn преимущественно накапливался в листьях и стеблях, что объяснялось необходимостью этого элемента для развития растения. Дальнейшие исследования будут сосредоточены на полевых испытаниях штамма RGPB, применяемого к *M. × giganteus* для фиторемедиации земель, загрязненных ТМЭ.

### **3.5 Каскадная утилизация биомассы *M. × giganteus* с помощью пиролиза с последующим производством биочара**

Чтобы определить качество БМ, обычно анализируются следующие термохимические параметры: фиксированный углерод, летучие вещества (VM) и зольность. Согласно Wilk и Magdziarz [176], содержание летучих веществ непосредственно влияло на процессы горения, приводя к выбросам. Мискантус имеет довольно высокое содержание летучих веществ (если пиролиз проводится при 272°C, VM достигает 62,9% [172]), что может негативно повлиять на процесс прямого сжигания, снижая энергоэффективность с образованием вредных выбросов. Содержание летучих веществ также может влиять на рост растений, препятствуя росту корней [177].

Другие физико-химические параметры, определяющие качество биоугля и его воздействие на почву, включают следующие параметры: SBET, pH и атомные соотношения кислорода к углероду (O/C) и водорода к углероду (H/C). Температура пиролиза, используемая при производстве БМ, может привести к постепенной потере водорода и кислорода и обогащению углеродом по сравнению со свежей биомассой [172]. pH биоугля может влиять на доступность питательных веществ для почвенных микробов и растений. Термохимические и физико-химические свойства биоугля являются важными параметрами для прогнозирования воздействия внесения биоугля на свойства почвы и рост растений [172,184].

Пиролиз биомассы мискантуса приводит к потере около 80% VM. Содержание золы в БМ значительно снижается с повышением температуры. Аналогичная тенденция наблюдалась и для фиксированного углерода: его содержание в БМ увеличивается с повышением температуры [172,184].

SBET БМ увеличивается с повышением температуры (Таблица 4); однако после достижения температуры 600°C дальнейшее повышение температуры снизило этот параметр. Пористость БМ является еще одним важным параметром для внесения изменений в почву, влияющим на ее свойства. Высокая внутренняя

поверхность и пористость БМ делают материал более эффективным для удаления загрязняющих веществ из почвы, поскольку это увеличивает способность биоугля к адсорбции органических соединений и ТМЭ и влияет на сорбционную способность ТМЭ. Объемы пор биоугля мискантуса увеличивались с повышением температуры пиролиза: когда мискантус производили при 300°C, объем пор был равен 0,0023 см<sup>3</sup> г<sup>-1</sup> [183], в то время как температура пиролиза 750°C приводила к объему пор, равному 0,19 см<sup>3</sup> г<sup>-1</sup> [186].

Элементный анализ биоугля определялся методом динамического сжигания во время вспышки с использованием калориметра Paar, сухого сжигания и анализатора элементов, который использует только кислород в горелке, обеспечивая таким образом полное сгорание и извлечение интересных элементов.

pH биоугля мискантуса увеличивается с повышением температуры пиролиза. Компоненты углеводов и лигнина исчезают с повышением температуры, что также относится к характерным полосам поглощения целлюлозы и гемицеллюлозы. Атомные соотношения O/C и H/C уменьшаются с повышением температуры пиролиза. Содержание углерода влияет на горючие характеристики биоугля, и эта характеристика увеличивается с повышением температуры пиролиза. Содержание азота также имеет тенденцию увеличиваться с повышением температуры пиролиза, содержание кислорода и водорода уменьшается с повышением температуры пиролиза [163].

Первым этапом производства биоугля является балансировка (рис. 20 а). БМ, полученный из зараженных корневищ, имеет самый высокий выход биоугля, равный 33,6%. Наибольшее выделение конденсата наблюдалось при производстве биоугля из соломы мискантуса (63,0%), однако при его переработке также наблюдалось наименьшее количество сингаза (6,7%). Еще одним важным моментом является то, что конденсаты содержат огромное количество воды - около 38,6-41,4%. Среднее значение HHV конденсатов составляло 0,15 МДж кг<sup>-1</sup>. Состав синтез-газа представлен в таблице 13. Наибольшее значение водорода было обнаружено в случае получения биоугля из загрязненных корневищ. Выделение водорода было в 8,1 раза выше по сравнению со значением при обработке соломы и чистых корневищ. По всем параметрам, показанным в таблице 13, только диоксид углерода был меньше в сингазе, выделяющемся при производстве биоугля из загрязненных корневищ.

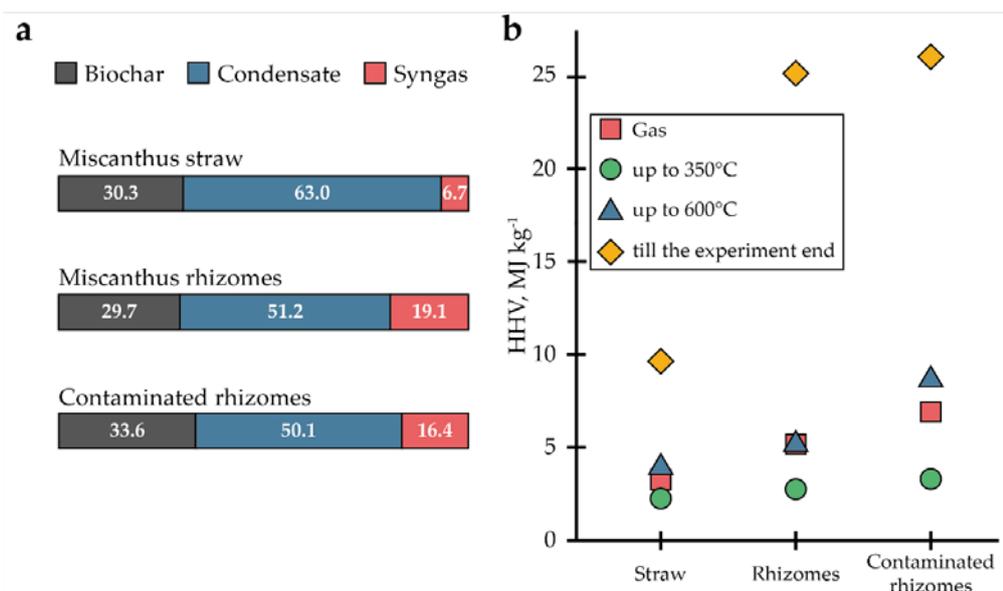


Рисунок 20 – Подробности производства БМ с использованием пиролиза. а) баланс; б) изменения HHV в сингазе

Сингаз, выделяющийся при производстве биоугля из соломы мискантуса, состоял на 68% из диоксида углерода, 29% оксида углерода, 1% метана и 2% смеси углеводородов и H<sub>2</sub>. В случае производства биоугля из корневищ содержание метана, водорода и углеводородов увеличилось до 5%, 2% и 2% соответственно. В сингазе, полученном при превращении загрязненных корневищ в биоуголь, вышеуказанные три соединения увеличились на 8%, 4% и 3%.

Таблица 13 – Состав сингаза

Соединение, vol.%	Солома	Корневище	Загрязненные корневища
H <sub>2</sub>	0.45	1.60	3.69
CO	29.17	29.19	30.72
CO <sub>2</sub>	67.84	62.17	55.21
CH <sub>4</sub>	1.95	5.34	7.86
C <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	0.18	0.38	0.45
C <sub>2</sub> H <sub>6</sub>	0.27	0.86	1.39
C <sub>3</sub> H <sub>6</sub>	0.05	0.18	0.25
C <sub>3</sub> H <sub>8</sub>	0.08	0.29	0.42

По сравнению с существующими литературными данными, полученные биоугли имеют более высокие значения термохимических и физико-химических свойств (Таблица 14). Например, содержание VM в БМ, полученном из загрязненных корневищ, составило  $24,0 \pm 0,4$ , что значительно выше (по крайней мере, в два раза), чем в БМ, полученном из листьев [172]. Перспективным является использование загрязненных корневищ *M. × giganteus*, обладающих

достаточно высоким содержанием биоуглей (до  $300 \text{ м}^2 \text{ г}^{-1}$ ), что приводит к лучшей сорбционной способности и, следовательно, поглощению загрязняющих веществ.

Еще одним потенциалом использования биоугля является улучшение качества почвы. Когда в почву добавляли БМ, это приводило к увеличению рН почвы, общего содержания углерода и содержания питательных веществ в почве (К, Mg и P). Кроме того, сообщалось о снижении общих концентраций некоторых ТМЭ (Al, Pb и Zn) [178,236]. Luo et al. [236] с инкубацией биоуглей мискантуса, приготовленных при разных температурах (350 и  $700^\circ\text{C}$ ). Было показано, что рН почвы и содержание Са увеличивались при получении БМ при  $700^\circ\text{C}$ . Извлекаемость ТМЭ снизилась в биоугле, полученном при более высоких температурах пиролиза, в то время как общее содержание С и общее содержание N в измененной почве оставались одинаковыми для обеих биоуглей. рН почвы и содержание питательных веществ в почве увеличивались по мере увеличения дозы внесения БМ [178,183]. Извлекаемость ТМЭ снижалась по мере увеличения дозы внесения БМ [178]; в то же время содержание питательных веществ в почве увеличивалось [178].

Анализ основных свойств биоугля показал, что полученные типы биоугля полностью соответствуют критериям (SBET, содержание золы, VM и урожайность), необходимым для улучшения качества почвы и фиторемедиации маргинальных и загрязненных почв. Однако это только первое звено в круге нулевых отходов. Следующим шагом является повторное введение полученного биоугля в цикл, чтобы замкнуть круг и создать безотходную технологию утилизации загрязненной биомассы (Рисунок 21).

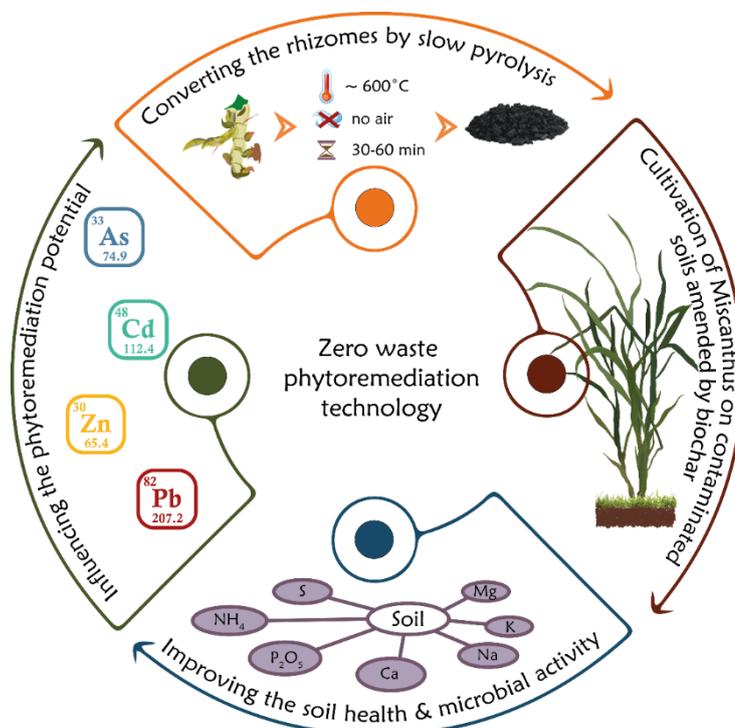


Рисунок 21 – Цикл «zero-waste» каскадной утилизации биомассы *M. × giganteus*

Таблица 14 – Сравнение основных свойств при производстве биочара

Параметр	Литературные данные					Данные исследования		
	Сырье	Солома					Солома	Корневища
t, °C	590	600	628	682	500-750	600		
Время, мин	-	60	-	-	-	120		
N, %	0.5	0.55	0.6	0.6	0.6	1.4 ± 0.11	2.0 ± 0.26	1.3 ± 0.02
C, %	77.3	85.1	75.6	75.6	80	67.4 ± 1.0	80.0 ± 0.9	64.6 ± 2.6
H, %	2.2	0.55	1.5	1.5	1.2	2.31 ± 0.36	2.2 ± 0.2	3.3 ± 0.4
O, %	6.8	-	5	5	6.6	6.7	6.8	7.3
pH (H <sub>2</sub> O)	10	-	-	10.3	-	8.8	9.3	-
VM, %	11.1	-	6.4	6.4	7.4	20.3 ± 1.0	14.4 ± 1.1	24.0 ± 0.4
FC, %	75.1	-	77.7	77.7	81.1	57.3 ± 3.0	76.5 ± 1.1	52.2 ± 0.7
Выход, %	32	19.8-20.2		31	-	30.4	29.7	33.6
H/C	0.03*	0.01*	0.24	0.02*	0.18	0.03	0.03	0.05
O/C	0.09*	-	0.05	0.07*	0.06	0.10	0.09	0.11
SBET, m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup>	183	51	-	62	-	300	133	71.1
A, %	13.7	-	15.9	15.9	11.5	19.7 ± 2.2	6.9 ± 0.1	18.2 ± 0.3
V, mm <sup>3</sup> <sub>liq</sub> g <sup>-1</sup>	-	-	-	-	-	155	77	-
Источники	[172]	[184]	[237]	[172]	[237]	Ostrava (VSB – TUO)		

На текущем этапе полученные биочары уже тестируются на потенциал улучшения качества почвы, ее композиционного состава и фиторемедиационного потенциала *M. × giganteus* по отношению к искусственно загрязненной почве. (Cu и Zn с концентрациями 100 и 300 мг кг<sup>-1</sup>).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Фиторемедиация - это многообещающая технология, которая с каждым годом набирает популярность для восстановления и очистки матриц окружающей среды, загрязненных ксенобиотиками различного происхождения. По сравнению с традиционными методами физической и химической очистки и восстановления, фиторемедиация имеет ряд преимуществ – технология является экологически чистой, экономически эффективной и применимой к широкому спектру загрязняющих веществ. Ключевым компонентом успешной фиторемедиации является правильный выбор растения в зависимости от типа загрязнения. Существует 6 подтипов фиторемедиации, применение которых основано на целевых объектах, то есть на происхождении загрязняющих веществ. Например, фитоэкстракция, ризофильтрация и фитостабилизация обычно используются для восстановления экологических масс, содержащих токсичные микроэлементы. Фито- и ризодеградация и фитоволокация используются для восстановления почв, загрязненных органическими загрязнителями. В настоящее время совместно с фиторемедиацией используются другие методы восстановления окружающей среды для снижения фитотоксичности, увеличения или уменьшения поглощения загрязняющих веществ и повышения продуктивности биомассы энергетических культур. Для оптимизации технологии фиторемедиации используются органические и неорганические добавки, такие как низкомолекулярные соединения, поверхностно-активные вещества, материалы, богатые углеродом, наночастицы, микроорганизмы и т.д. Однако, в дополнение к вопросам улучшения фиторемедиационного потенциала энергетических культур, существует также проблема утилизации восстановленной загрязненной биомассы, которая имеет многообещающую энергетическую ценность. Все эти вопросы исследуются в данной диссертации.

В результате проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Почва вокруг бывшего склада устаревших пестицидов загрязнена 24 наименованиями ХОП, включая 15 СОЗ пестицидов (альдрин, хлордан, 2.4-ДДД, 4.4-ДДД, 4.4-ДДЭ, 4.4-ДДТ, дикофол, дильдрин, эндрин, эндосульфат  $\alpha$  и  $\beta$ , ГХБ,  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -ГХЦГ и гептахлор) в концентрациях, превышающих ПДК до 1000 раз, которые представляют угрозу для окружающей среды и здоровья человека.

2. *M. sinensis* толерантен к сильному загрязнению почвы ( $145 \text{ мг кг}^{-1}$ ) многочисленными ХОП, в отличие от *M. × giganteus*. Индекс толерантности растения, равный 0.99, подтверждает вышеуказанное утверждение. Высота растений и сухая масса надземной биомассы уменьшились на 5% и 23%, в то время как длина и сухая масса корней увеличились на 16% и 11%, соответственно. Было обнаружено, что ХОП влияют на содержание пигментов хлорофилла: *Chl<sub>a</sub>* снизился на 30%, *Chl<sub>b</sub>* – на 37%, а каротиноиды – на 29%.

3. *M. sinensis* может поглощать ХОП из загрязненной почвы и гипераккумулировать дикофол, хлордан, дильдрин, эндосульфат сульфат,  $\beta$ -ГХЦГ и ГХБ с ВСФ 66.8, 35.9, 21.1, 21.7, 6.6 и 28.7. Энергетическая культура обладает потенциалом для биоконцентрации 4.4-ДДЭ, 4.4-ДДТ, метоксихлор,  $\gamma$ -ГХЦГ, альдрин, гептахлор, эндосульфат  $\beta$ , эндрин альдегид и гексабромбензен с коэффициентами биоконцентрации, превышающими 1 и равными 2.1, 1.5, 3.9, 1.1, 1.6, 2.7, 2.6, 1.2 и 2.1, соответственно, для фитостабилизации 4.4-ДДЭ, дикофола и хлордана с коэффициентами транслокации равными 0.49, 0.07 и 0.47, и для фитоэкстракции  $\beta$ -ГХЦГ,  $\gamma$ -ГХЦГ и гептахлора с TLF выше 1 и равными 4.04, 84 и 2.01, соответственно. 4-ДДТ, метоксихлор, альдрин, дильдрин, эндосульфат  $\beta$ , эндосульфат сульфат и эндрин альдегид равномерно распределены внутри растения (TLF = 1.0). Корреляционный анализ подтвердил, что поглощение ХОП из почвы зависит от их гидрофобности: чем выше гидрофобность, тем ниже накопление в тканях растений. Было обнаружено, что *M. sinensis*, растущий на загрязненной почве, собранной вблизи бывшего склада пестицидов, развил механизм физиологической устойчивости во время адаптации к ХОП, то есть накопление и перемещение ХОП в системе “почва – корень – надземная биомасса” с использованием механизмов фитостабилизации и фитоэкстракции. *M. sinensis* может быть использован для восстановления почв, загрязненных ХОП.

4. Оптимизация условий выращивания *M. sinensis* в почве, загрязненной ХОП, показала, что внесение Tween 20 увеличивает высоту растений и длину корней на 16.6% и 20.8%, соответственно; увеличивает накопление и обеспечивает фитостабилизирующий эффект в отношении альдрина, хлордана, дильдрина, эндосульфана  $\beta$ , эндосульфат сульфата, эндрин альдегида, гептахлора, гексабромбензена, метоксихлора, 4.4-ДДТ, и 4.4-ДДЭ, увеличивая их поглощение и снижая их транслокацию в НЗБ в 2.2 и 10.4, 1.4 и 6.0, 2.2 и 11.3, 1.8 и 6.1, 2.5 и 8.2, 2.3 и 10.1, 1.3 и 8.5, 1.3 и 16.0, 1.2 и 13.6, 2.1 и 17.5, 1.6 и 3.9 раза, соответственно; снижает поглощение ГХБ,  $\beta$ -ГХЦГ и  $\gamma$ -ГХЦГ в 2.7, 1.3 и 23.1 раза, соответственно; обеспечивает фитоэкстракцию дикофола, увеличивая миграцию в 2.2 раза: применение Tween 20 повышает эффективность поглощения и фитостабилизации ХОП. Внесение АУ в почву, загрязненную ХОП, показало, что снижается поглощение альдрина, хлордана, дильдрина, эндосульфана  $\beta$ , эндосульфат сульфата, эндрин альдегида, ГХБ, гептахлора, гексабромбензена, метоксихлора,  $\beta$ -ГХЦГ,  $\gamma$ -ГХЦГ, и 4.4-ДДТ в 1.6, 3.0, 1.6, 1.1, 1.4, 1.5, 3.0, 1.4, 2.0, 1.5, 2.4, 23.1 и 1.4 раза, соответственно; усиливается фитостабилизация всех ХОП, кроме хлордана (транслокация в НЗБ увеличилась в 18 раз), в диапазоне 1.9 до 115 раз.

5. *M. × giganteus* толерантен (ТІ до 2.0) высокие концентрации V (в 11.7 раза выше ПДК), Sr (59.8×ПДК), Cr (2.7×ПДК), Ni (2.1×ПДК) и особенно Pb (4.6×ПДК и 33.9×ПДК), которые были наиболее биодоступными из-за искусственного загрязнения почвы, следовательно, отсутствия процесса старения почвы.

Энергетическая культура, способная поглощать ТМЭ из загрязненной почвы: в условиях множественного загрязнения ТМЭ *M. × giganteus* может биоконцентрировать и фитоэкстрагировать Mn с ВСФ для НЗБ и корней 1.2-1.6 и 0.5-0.7, соответственно; с увеличением концентрации Pb в почве накопление Mn в НЗБ и корнях уменьшилось на 25.6% и 31.8%, соответственно. В отношении четырех оставшихся ТМЭ, а именно Cu, Zn, Sr и Pb, *M. × giganteus* не обладает потенциалом для их биоконцентрации (ВСФ меньше 1, даже 0.1, за исключением Zn) в условиях множественного загрязнения ТМЭ. Более того, *M. × giganteus* не может поглощать и накапливать V, Cr и Ni при множественном загрязнении почвы ТМЭ.

6. Оптимизация условий выращивания *M. × giganteus* в почве, загрязненной ТМЭ, показала, что инокуляция корневищ РГРВ *B. altitudinis* КР-14 улучшает физиологические параметры, такие как высота и сухая масса листьев, стеблей и корней на 28.2%, 49.1%, 85.9% и 76.,0%, соответственно; обеспечивает фитостабилизирующий эффект в отношении Cu, Sr и Pb, увеличивая их поглощение на 30.6%, 30.3% и 39.7%, соответственно.

7. Загрязненная биомасса *M. × giganteus* может быть использована для производства биочара с целью достижения “zero-waste” технологии в фиторемедиации. Средний выход биочара, полученного либо из соломы Мискантуса (НЗБ), либо из корневищ, составляет 31.2%. Биочар обладает хорошими термохимическими и физико-химическими свойствами, которые можно применять в процессе улучшения качества почвы и фиторемедиации: загрязненная биомасса может быть преобразована в биочар для содействия фиторемедиации.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

- 1 Baubekova A., Akindykova A., Mamirova A., Dumat C., Jurjanz S. Evaluation of environmental contamination by toxic trace elements in Kazakhstan based on reviews of available scientific data // *Environ. Sci. Pollut. Res.* - 2021. - Vol. 28, № 32. - P. 43315–43328.
- 2 Nurzhanova A., Kulakow P., Rubin E., Rakhimbayev I., Sedlovskiy A., Zhambakin K., Kalugin S., Kolysheva E., Erickson L. Obsolete Pesticides Pollution and Phytoremediation of Contaminated Soil in Kazakhstan // *Application of Phytotechnologies for Cleanup of Industrial, Agricultural, and Wastewater Contamination* / ed. Kulakow P.A., Pidlisnyuk V.V. Dordrecht: Springer Netherlands, - 2010. - P. 87–111.
- 3 Moklyachuk L., Gorodiska I., Slobodenyuk O., Petryshyna V. Phytoremediation of Soil Polluted with Obsolete Pesticides in Ukraine // *Application of Phytotechnologies for Cleanup of Industrial, Agricultural, and Wastewater Contamination* / ed. Kulakow P.A., Pidlisnyuk V.V. Dordrecht: Springer Netherlands, - 2010. - P. 113–124.
- 4 Bogdevich O., Cadocinicov O. Elimination of Acute Risks from Obsolete Pesticides in Moldova: Phytoremediation Experiment at a Former Pesticide Storehouse // *Application of Phytotechnologies for Cleanup of Industrial, Agricultural, and Wastewater Contamination* / ed. Kulakow P.A., Pidlisnyuk V.V. Dordrecht: Springer Netherlands, - 2010. - P. 61–85.
- 5 Brunet R. Hauts lieux et mauvais lieux du Kazakhstan // *L’Espace Géographique*. Paris: Belin, - 2001. - Vol. 30, № 1. - P. 37–51.
- 6 Safirova E. The mineral industry of Kazakhstan // *2015 Minerals Yearbook* [Advanced release]. US Department of the Interior & US Geological Survey, - 2019. - P. 24.1-24.16.
- 7 [www.kmgep.kz](http://kmgep.kz) [Electronic resource] // KazMunaiGas Exploration Production JSC. URL: [http://kmgep.kz/eng/about\\_kazakhstan/oil\\_and\\_gas\\_sector](http://kmgep.kz/eng/about_kazakhstan/oil_and_gas_sector).
- 8 Astanina L., Tonkobayeva A., Bragina T., Kalmykova U. Overview of the POPs situation in Kazakhstan. IPEN, - 2004.
- 9 Weber R., Schlumpf M., Nakano T., Vijgen J. The need for better management and control of POPs stockpiles // *Environ. Sci. Pollut. Res.* - 2015. - Vol. 22, № 19. - P. 14385–14390.
- 10 UNEP. Global International Waters Assessment Indian ocean Islands, GIWA Regional assessment 45b. Kalmar, Sweden: University of Kalmar, - 2004.
- 11 Astanina L., Dylevskaya S., Korneeva Z. Implementation of the Stockholm, Rotterdam and Basel Conventions in Kazakhstan (overview), Almaty. Kazakhstan: Analytical environmental agency “Greenwomen,” - 2018. - P. 53.
- 12 Kacholi D.S., Sahu M. Levels and Health Risk Assessment of Heavy Metals in Soil, Water, and Vegetables of Dar es Salaam, Tanzania // *J. Chem. Hindawi*, - 2018. - Vol. 2018. - P. 9.
- 13 Dumat C., Pierart A., Shahid M., Khalid S. Pollutants in urban agriculture: sources, health risk assessment and sustainable management // *Bioremediation of Agricultural Soils* / ed. Sanchez-Hernandez J.C. CRC press Taylor & Francis Group, - 2019. - P. 290.

- 14 Deng M., Zhu Y., Shao K., Zhang Q., Ye G., Shen J. Metals source apportionment in farmland soil and the prediction of metal transfer in the soil-rice-human chain // *J. Environ. Manage.* - 2020. - Vol. 260. - P. 110092.
- 15 Pascaud G., Leveque T., Soubrand M., Boussen S., Joussein E., Dumat C. Environmental and health risk assessment of Pb, Zn, As and Sb in soccer field soils and sediments from mine tailings: solid speciation and bioaccessibility: 6 // *Environ. Sci. Pollut. Res.* - 2014. - Vol. 21, № 6. - P. 4254–4264.
- 16 Abrahams P.W., Steigmajer J. Soil ingestion by sheep grazing the metal enriched floodplain soils of mid-Wales // *Environ. Geochem. Health. Springer*, - 2003. - Vol. 25, № 1. - P. 17–24.
- 17 Jurjanz S., Feidt C., Pérez-Prieto L.A., Ribeiro Filho H.M.N., Rychen G., Delagarde R. Soil intake of lactating dairy cows in intensive strip grazing systems: 8 // *Animal*. - 2012. - Vol. 6, № 8. - P. 1350–1359.
- 18 Jurjanz S., Germain K., Dziurla M.A., Juin H., Jondreville C. Use of acid-insoluble ash and n-alkanes as markers of soil and plant ingestion by chickens // *Anim. Feed Sci. Technol.* - 2014. - Vol. 188. - P. 92–101.
- 19 Monitoring development of agricultural cooperation in Kazakhstan. - 2019.
- 20 Diacono E., Faye B., Meldebekova A., Konuspayeva G. Plant, Water and Milk Pollution in Kazakhstan / ed. Faye B., Sinyavskiy Y. Dordrecht: Springer Netherlands, - 2008. - P. 107–116.
- 21 Akhmetsadykova S. Impact de la pollution sur la qualité du lait de chamelle au Kazakhstan: thesis. Montpellier SupAgro, - 2012.
- 22 Smith G. Chlorinated hydrocarbon insecticides In: Hayes WJ Jr, Laws ER Jr, editors. *Handbook of Pesticide Toxicology: Classes of Pesticides*. San Diego: Academic Press, - 1991.
- 23 Stockholm Convention [Electronic resource] // *Persistent Organic Pollutants*. - 2021. URL: <http://www.pops.int/Implementation/PesticidePOPs/tabid/5359/Default.aspx> (accessed: 01.04.2021).
- 24 Novikov V., Simonett O. Waste and Chemicals in Central Asia, A Visual Synthesis. Swiss Federal Office for the Environment, - 2013. - P. 116.
- 25 Wania F., Mackay D. A global distribution model for persistent organic chemicals // *Sci. Total Environ.* - 1995. - Vol. 160–161. - P. 211–232.
- 26 Wania F., Mackay D. Global Fractionation and Cold Condensation of Low Volatility Organochlorine Compounds in Polar Regions // *Ambio*. [Springer, Royal Swedish Academy of Sciences], - 1993. - Vol. 22, № 1. - P. 10–18.
- 27 DeLong R.L., Gilmartin W.G., Simpson J.G. Premature Births in California Sea Lions: Association with High Organochlorine Pollutant Residue Levels // *Science. American Association for the Advancement of Science*, - 1973. - Vol. 181, № 4105. - P. 1168–1170.
- 28 Miniero R. et al. Persistent toxic substances in Mediterranean aquatic species // *Sci. Total Environ.* - 2014. - Vol. 494–495. - P. 18–27.
- 29 Mit N., Cherednichenko O., Mussayeva A., Khamdiyeva O., Amirgalieva A., Begmanova M., Tolebaeva A., Koishekenova G., Zaypanova S., Pilyugina A., Amandykova M., Tlenshieva A., Nurzhanova A., Mamirova A., Bekmanov B.,

- Djansugurova L. Ecological risk assessment and long-term environmental pollution caused by obsolete undisposed organochlorine pesticides // *J. Environ. Sci. Health Part B*. Taylor & Francis, - 2021. - Vol. 56, № 5. - P. 490–502.
- 30 Selin H., Eckley N. Science, Politics, and Persistent Organic Pollutants: The Role of Scientific Assessments in International Environmental Co-operation // *Int. Environ. Agreem.* - 2003. - Vol. 3, № 1. - P. 17–42.
- 31 Eqani S.A.-M.-A.-S., Malik R.N., Cincinelli A., Zhang G., Mohammad A., Qadir A., Rashid A., Bokhari H., Jones K.C., Katsoyiannis A. Uptake of organochlorine pesticides (OCPs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) by river water fish: The case of River Chenab // *Sci. Total Environ.* - 2013. - Vol. 450–451. - P. 83–91.
- 32 Idowu G. Organochlorine pesticide residues in Nigeria. - 2018.
- 33 USEPA. Non-Carcinogen Tolerable Daily Intake (TDI) Values from US EPA [Electronic resource]. - 2007. URL: [http://www.popstoolkit.com/tools/HHRA/TDI\\_USEPA.aspx](http://www.popstoolkit.com/tools/HHRA/TDI_USEPA.aspx).
- 34 PubChem. PubChem Compound Summary [Electronic resource]: National Library of Medicine (US) // National Center for Biotechnology Information. - 2021. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/> (accessed: 13.06.2021).
- 35 MHRK and MEPRK. Standards for maximum permissible concentrations of harmful substances, pests and other biological substances polluting the soil, approved by a joint order of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan dated January 30, 2004 No. 99 and the Ministry of Environmental Protection of the Republic of Kazakhstan dated January 27, 2004 No. 21-P. - 2004.
- 36 Crommentuijn T., Sijm D., de Bruijn J., van Leeuwen K., van de Plassche E. Maximum permissible and negligible concentrations for some organic substances and pesticides // *J. Environ. Manage.* - 2000. - Vol. 58, № 4. - P. 297–312.
- 37 WHO. Environmental health criteria 9: DDT and its derivatives. Geneva, Switzerland: World Health Organization, - 1979.
- 38 WHO. Environmental health criteria 91: Aldrin and Dieldrin. Geneva, Switzerland: World Health Organization, - 1989.
- 39 WHO. Environmental health criteria 38: Heptachlor. Geneva, Switzerland: World Health Organization, - 1984.
- 40 WHO. Environmental health criteria 195: Hexachlorobenzene. Geneva, Switzerland: World Health Organization, - 1997.
- 41 FAO, WHO. 1968 evaluations of some pesticide residues in food: Dicofol: FAO/PL:1968/M/9/1 WHO/Food Add./69.35. Geneva, Switzerland: Food and Agriculture Organization of the United Nations, World and Health Organization, - 1969.
- 42 FAO, WHO. 1965 evaluations of some pesticide residues in food: Methoxychlor: FAO/PL:1965/10 WHO/Food Add./26.65. Geneva, Switzerland: Food and Agriculture Organization of the United Nations, World and Health Organization, - 1965.
- 43 FAO, WHO. 1968 evaluations of some pesticide residues in food: Chlorobenzilate: FAO/PL:1968/M/9/1 WHO/Food Add./69.35. Geneva, Switzerland:

Food and Agriculture Organization of the United Nations, World and Health Organization, - 1969.

44 FAO, WHO. 1967 evaluations of some pesticide residues in food: Chlordane: FAO/PL:1967/M/11/1 WHO/Food Add./68.30. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations, World and Health Organization, - 1968.

45 WHO. Environmental health criteria 40: Endosulfan. Geneva, Switzerland: World Health Organization, - 1984.

46 WHO. Environmental health criteria 130: Endrin. Geneva, Switzerland: World Health Organization, - 1992.

47 Derbes V.J., Dent J.H., Forrest W.W., Johnson M.F. Fatal chlordane poisoning // J. Am. Med. Assoc. - 1955. - Vol. 158, № 15. - P. 1367–1369.

48 WHO. Environmental health criteria 34: Chlordane. Geneva, Switzerland: World Health Organization, - 1984.

49 Besbelli N., Lefebvre L. Poison information monograph 257: Hexachlorocyclohexanes (mixed isomers). - 2001.

50 IPEN. Review on the implementation of the obligations of the Republic of Kazakhstan under the Stockholm Convention on POPs. Kazakhstan: Analytical Environmental Agency “Greenwomen,” - 2018. - P. 122.

51 Nurzhanova A., Djansugurova L., Zhabbasov R., Vsevolodov E., Zhubanova A. Inventory of obsolete pesticides in Almaty region (on the example of Talgar region). Almaty, Kazakhstan: Institute of General Genetics and Cytology; Institute of Plant Biology and Biotechnology, - 2020. - P. 116.

52 Kabata-Pendias A., Pendias H. Trace elements in soils and plants. 3rd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, - 2001. - 403 p.

53 He Z.L., Yang X.E., Stoffella P.J. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment // J. Trace Elem. Med. Biol. - 2005. - Vol. 19, № 2. - P. 125–140.

54 Goyer R. Toxic effects of metals // Cassarett and Doull’s Toxicology: The Basic Science of Poisons / ed. Klaassen C. New York, NY: McGraw-Hill Publisher, - 2001. - P. 811–867.

55 Herawati N., Suzuki S., Hayashi K., Rivai I., Koyama H. Cadmium, copper, and zinc levels in rice and soil of Japan, Indonesia, and China by soil type // Bull. Environ. Contam. Toxicol. Springer, - 2000. - Vol. 64, № 1. - P. 33–39.

56 Shallari S., Schwartz C., Hasko A., Morel J.L. Heavy metals in soils and plants of serpentine and industrial sites of Albania // Sci. Total Environ. - 1998. - Vol. 209, № 2. - P. 133–142.

57 Nriagu J.O. A global assessment of natural sources of atmospheric trace metals: 6210 // Nature. Nature Publishing Group, - 1989. - Vol. 338, № 6210. - P. 47–49.

58 Panin M., Geldymamedova E. Ecological-geochemical characteristic of soils of Pavlodar (the Republic of Kazakhstan): 292 // Vestn Tomsk Gos Univ. - 2006. № 292. - P. 171–177.

59 KSES. Kazakh standard for environmental safety. Approval of hygienic standards for environmental safety (soil). Order of the Minister of National Economy of the Republic of Kazakhstan dated June 25, 2015 No. 452. Registered with the Ministry of Justice of the Republic of Kazakhstan on July 24, 2015 No. 11755: 11755. - 2015.

- 60 RSR. Russian soil regulation. Maximum permissible concentrations (MPC) of chemicals in the soil. approved by the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation on January 19, 2006. Hygienic standards GN 2.1.7.2042-06. Moscow, Russia, - 2006.
- 61 Holbrook D J, Washington M E, Leake H B, Brubaker P E. Studies on the evaluation of the toxicity of various salts of lead, manganese, platinum, and palladium. // Environ. Health Perspect. Environmental Health Perspectives, - 1975. - Vol. 10. - P. 95–101.
- 62 ECHA. Registration Dossier [Electronic resource] // European Chemical Agency. URL: <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/15506/7/3/1> (accessed: 13.06.2021).
- 63 Mastromatteo E. Nickel // Am. Ind. Hyg. Assoc. J. Taylor & Francis, - 1986. - Vol. 47, № 10. - P. 589–601.
- 64 Mynbaeva B. Analysis of natural and anthropogenic factors of environmental pollution in Almaty: 2 // Bull Altai State Agrarian Univ. - 2012. - Vol. 88, № 2. - P. 52–56.
- 65 Tilekova Z.T., Oshakbayev M.T., Yerubayeva G.K. Assessment of norms of admissible impact on water objects of trans-Balkhash area: 3 // Int. J. Chem. Sci. - 2015. - Vol. 13, № 3. - P. 1495–1510.
- 66 GMS. Information bulletin on the state of the environment of the Republic of Kazakhstan for 2019. Almaty, Kazakhstan: inistry of Ecology, Geology and Natural Resources of RSE “Kazhydromet,” - 2019. - P. 372.
- 67 Woszczyk M., Spsychalski W., Boluspaeva L. Trace metal (Cd, Cu, Pb, Zn) fractionation in urban-industrial soils of Ust-Kamenogorsk (Oskemen), Kazakhstan—implications for the assessment of environmental quality: 6 // Environ. Monit. Assess. - 2018. - Vol. 190, № 6. - P. 362–378.
- 68 Baubekova A., Akindykova A., Mamirova A., Dumat C., Jurjanz S. Meta-analysis of environmental concentrations of heavy metals over the last 20 years in Kazakhstan // Environ. Sci. Pollut. Res. - 2021.
- 69 Salbu B., Burkitbaev M., Strømman G., Shishkov I., Kayukov P., Uralbekov B., Rosseland B.O. Environmental impact assessment of radionuclides and trace elements at the Kurday U mining site, Kazakhstan // J. Environ. Radioact. - 2013. - Vol. 123. - P. 14–27.
- 70 Tazitdinova R., Beisenova R., Grigoryev A., Issayenko O. Contamination of soil with heavy metals in industrial districts of Kokshetau: 2 // Sci Bul. Univ Karaganda, series Biol Med Geogr. - 2019. - Vol. 94, № 2. - P. 93–98.
- 71 Boluspaeva L., Panin M. Heavy metals in the soils of the Ust-Kamenogorsk city, Republic of Kazakhstan: 6. - 2012. - Vol. 19, № 6. - P. 803–810.
- 72 Kirshibaev E., Sarsenbaev B., Baiseiytova G., Nokerbekova N., Kamunur M. Distribution of heavy metals on bodies of sunflower grown up in the conditions of technogenic pollution of soils: 3. - 2012. - Vol. 55, № 3. - P. 68–72.
- 73 Kaliaskarova Z., Aliyeva Z., Ikanova A., Negim E. Soil pollution with heavy metals on the land of the karasai landfill of municipal solid waste in Almaty city // News of the Academy of Science of the Republic of Kazakhstan, series Geology and Technical Sci. - 2019. - Vol. 6. - P. 256–267.

- 74 Kenzhetayev G.Z., Syrlybekkyzy S., Zhidebayeva A. Ecological assessment of soils near the cement factory Caspian Cement on the chalk deposits Shetpe South.: 4 // Eurasian J. Ecol. Al-Farabi Kazakh National University, - 2018. - Vol. 57, № 4. - P. 32–44.
- 75 USEPA. A Citizen's Guide to Phytoremediation: EPA 542-F-98-011. Washington D.C.: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, - 1998. - P. 2.
- 76 USEPA. National Water Quality Inventory: 1998 Report to Congress: EPA841-F00-006. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, - 2000.
- 77 Nsanganwimana F., Pourrut B., Mench M., Douay F. Suitability of Miscanthus species for managing inorganic and organic contaminated land and restoring ecosystem services. A review // J. Environ. Manage. - 2014. - Vol. 143. - P. 123–134.
- 78 Pacheco-Torgal F., Jalali S. Cementitious building materials reinforced with vegetable fibres: A review // Constr. Build. Mater. - 2011. - Vol. 25, № 2. - P. 575–581.
- 79 Mamirova A., Pidlisnyuk V. Phytotechnology with energy crops biomass production // Key Questions on Climate Change and Sustainability. Toward the Make-or-Break Years / ed. Pidlisnyuk V. Kyiv, Ukraine: Printeko, - 2021. - P. 115–120.
- 80 Borkowska H., Wardzinska K. Some Effects of *Sida hermaphrodita* R. Cultivation on Sewage Sludge. // Pol. J. Environ. Stud. - 2003. - Vol. 12, № 1.
- 81 Pidlisnyuk V., Hettiarachchi G.M., Zgorelec Z., Prelac M., Bilandžija N., Davis L.C., Erickson L.E. Phytotechnologies for Site Remediation // Phytotechnology with Biomass Production: Sustainable Management of Contaminated Sites / ed. Erickson L.E., Pidlisnyuk V. CRC press Taylor & Francis Group, - 2021. - P. 5–36.
- 82 Parrish D.J., Casler M.D., Monti A. The Evolution of Switchgrass as an Energy Crop // Switchgrass: A Valuable Biomass Crop for Energy / ed. Monti A. London: Springer, - 2012. - P. 1–28.
- 83 El-Showk S., El-Showk N. The Paulownia tree // Altern. Sustain. For. Crop Dev. Moroc. - 2003. - P. 1–8.
- 84 Jiménez L., Rodríguez A., Ferrer J., Pérez A., Angulo V. La Paulownia: una planta de rápido crecimiento como materia prima para la fabricación de papel // Afinidad. Asociacion de Quimicos del Instituto Quimico de Sarria, - 2005. - Vol. 62, № 516. - P. 100–105.
- 85 López F., Pérez A., Zamudio M.A.M., De Alva H.E., García J.C. Paulownia as raw material for solid biofuel and cellulose pulp // Biomass Bioenergy. - 2012. - Vol. 45. - P. 77–86.
- 86 Roozeboom K.L., Wang D., McGowan A.R., Prophet J.L., Staggenborg S.A., Rice C.W. Long-term Biomass and Potential Ethanol Yields of Annual and Perennial Biofuel Crops // Agron. J. - 2019. - Vol. 111, № 1. - P. 74–83.
- 87 Lewandowski I. et al. Progress on Optimizing Miscanthus Biomass Production for the European Bioeconomy: Results of the EU FP7 Project OPTIMISC // Front. Plant Sci. Frontiers, - 2016. - Vol. 7.
- 88 Rusinowski S., Krzyżak J., Clifton-Brown J., Jensen E., Mos M., Webster R., Sitko K., Pogrzeba M. New Miscanthus hybrids cultivated at a Polish metal-

- contaminated site demonstrate high stomatal regulation and reduced shoot Pb and Cd concentrations // *Environ. Pollut.* - 2019. - Vol. 252. - P. 1377–1387.
- 89 Pidlisnyuk V.V., Erickson L., Stefanovska T., Popelka J., Hettiarachchi G., Davis L., Trögl J. Potential phytomanagement of military polluted sites and biomass production using biofuel crop miscanthus x giganteus // *Environ. Pollut.* - 2019. - Vol. 249. - P. 330–337.
- 90 Gołąb-Bogacz I., Helios W., Kotecki A., Kozak M., Jama-Rodzeńska A. The Influence of Three Years of Supplemental Nitrogen on Above- and Belowground Biomass Partitioning in a Decade-Old Miscanthus × giganteus in the Lower Silesian Voivodeship (Poland): 10 // *Agriculture. Multidisciplinary Digital Publishing Institute*, - 2020. - Vol. 10, № 10. - P. 473.
- 91 Zhao J., Wang D., Pidlisnyuk V.V., Erickson L.E. Miscanthus Biomass for Alternative Energy Production // *Phytotechnology with Biomass Production: Sustainable Management of Contaminated Sites* / ed. Erickson L.E., Pidlisnyuk V.V. CRC press Taylor & Francis Group, - 2021. - P. 242.
- 92 Ye X., Zhang Z., Chen Y., Cheng J., Tang Z., Hu Y. Physico-chemical pretreatment technologies of bioconversion efficiency of Paulownia tomentosa (Thunb.) Steud. // *Ind. Crops Prod.* - 2016. - Vol. 87. - P. 280–286.
- 93 Han M., Kim Y., Koo B., Choi G.-W. Bioethanol production by Miscanthus as a lignocellulosic biomass: Focus on high efficiency conversion to glucose and ethanol: 2 // *BioResources.* - 2011. - Vol. 6, № 2. - P. 1939–1953.
- 94 Villaverde J.J., Ligeró P., Vega A. de. Miscanthus x giganteus as a Source Of Biobased Products Through Organosolv Fractionation: A Mini Review // *Open Agric. J.* - 2010. - Vol. 4, № 1.
- 95 Acikel H. The use of miscanthus (Giganteus) as a plant fiber in concrete production // *Sci. Res. Essays. Academic Journals*, - 2011. - Vol. 6, № 13. - P. 2660–2667.
- 96 Park H.-J., Oh S.-W., Wen M.-Y. Manufacture and properties of Miscanthus–wood particle composite boards // *J. Wood Sci.* - 2012. - Vol. 58, № 5. - P. 459–464.
- 97 Turner B.C., Taylor A.W., Edwards W.M. Dieldrin and Heptachlor Residues in Soybeans1 // *Agron. J.* - 1972. - Vol. 64, № 2. - P. 237–239.
- 98 Åslund M., Cederström B., Lundqvist M., Danielsson M. Physical characterization of a scanning photon counting digital mammography system based on Si-strip detectors // *Med. Phys.* - 2007. - Vol. 34, № 6Part1. - P. 1918–1925.
- 99 Zeeb B.A., Amphlett J.S., Rutter A., Reimer K.J. Potential for Phytoremediation of Polychlorinated Biphenyl-(PCB)-Contaminated Soil // *Int. J. Phytoremediation. Taylor & Francis*, - 2006. - Vol. 8, № 3. - P. 199–221.
- 100 Agbeve S.K., Carboo D., Duker-Eshun G., Ofori S.A. and P. BURDEN OF ORGANOCHLORINE PESTICIDE RESIDUES IN THE ROOT OF CRYPTOLEPIS SANGUINOLENTA, ANTIMALARIAL PLANT USED IN TRADITIONAL MEDICINE IN GHANA.: 11 // *Eur. Chem. Bull.* - 2013. - Vol. 2, № 11. - P. 936–941.
- 101 Paul S., Rutter A., Zeeb B.A. Phytoextraction of DDT-Contaminated Soil at Point Pelee National Park, Leamington, ON, Using Cucurbita pepo Cultivar Howden and Native Grass Species // *J. Environ. Qual.* - 2015. - Vol. 44, № 4. - P. 1201–1209.

- 102 Faix O., Meier D., Beinhoff O. Analysis of lignocelluloses and lignins from *Arundo donax* L. and *Miscanthus sinensis* Anderss., and hydroliquefaction of *Miscanthus* // *Biomass*. - 1989. - Vol. 18, № 2. - P. 109–126.
- 103 Porvaz P., Tóth Š., Marcin A. Cultivation of Chinese Silvergrass (*Miscanthus Sinensis* Anderss.) On the East Slovak Lowland as a Potential Source of Raw Material for Energy Purposes // *Agric. Polnohospodárstvo. Sciendo*, - 2012. - Vol. 58, № 4. - P. 146–153.
- 104 Bok J.P., Choi H.S., Choi J.W., Choi Y.S. Fast pyrolysis of *Miscanthus sinensis* in fluidized bed reactors: Characteristics of product yields and biocrude oil quality // *Energy*. - 2013. - Vol. 60. - P. 44–52.
- 105 Dukiewicz H., Waliszewska B., Zborowska M. Higher and lower heating values of selected lignocellulose materials // *Ann. Wars. Univ. Life Sci.-SGGW For. Wood Technol.* -, - 2014. - Vol. 87.
- 106 Gucho E.M., Shahzad K., Bramer E.A., Akhtar N.A., Brem G. Experimental Study on Dry Torrefaction of Beech Wood and *Miscanthus*: 5 // *Energies. Multidisciplinary Digital Publishing Institute*, - 2015. - Vol. 8, № 5. - P. 3903–3923.
- 107 Davis L.C., Zeeb B.A., Erickson L.E., Mamirova A., Pidlisnyuk V.V. Remediation of Sites Contaminated by Organic Compounds // *Phytotechnology with Biomass Production: Sustainable Management of Contaminated Sites* / ed. Erickson L.E., Pidlisnyuk V.V. CRC press Taylor & Francis Group, - 2021. - P. 37–59.
- 108 Bang J., Kamala-Kannan S., Lee K.-J., Cho M., Kim C.-H., Kim Y.-J., Bae J.-H., Kim K.-H., Myung H., Oh B.-T. Phytoremediation of Heavy Metals in Contaminated Water and Soil Using *Miscanthus* sp. *Goedae-Uksae 1* // *Int. J. Phytoremediation. Taylor & Francis*, - 2015. - Vol. 17, № 6. - P. 515–520.
- 109 Pidlisnyuk V.V., Erickson L.E., Trögl J., Shapoval P.Y., Popelka J., Davis L.C., Stefanovska T.R., Hettiarachchi G.M. Metals uptake behaviour in *Miscanthus x giganteus* plant during growth at the contaminated soil from the military site in Sliac, Slovakia // *Pol. J. Chem. Technol. Sciendo*, - 2018. - Vol. 20, № 2. - P. 1–7.
- 110 Pidlisnyuk V., Mamirova A., Pranaw K., Shapoval P.Y., Trögl J., Nurzhanova A. Potential role of plant growth-promoting bacteria in *Miscanthus x giganteus* phytotechnology applied to the trace elements contaminated soils // *Int. Biodeterior. Biodegrad.* - 2020. - Vol. 155. - P. 105103.
- 111 Pogrzeba M., Rusinowski S., Sitko K., Krzyżak J., Skalska A., Małkowski E., Ciszek D., Werle S., McCalmont J.P., Mos M., Kalaji H.M. Relationships between soil parameters and physiological status of *Miscanthus x giganteus* cultivated on soil contaminated with trace elements under NPK fertilisation vs. microbial inoculation // *Environ. Pollut.* - 2017. - Vol. 225. - P. 163–174.
- 112 Nurzhanova A., Pidlisnyuk V., Abit K., Nurzhanov C., Kenessov B., Stefanovska T., Erickson L. Comparative assessment of using *Miscanthus x giganteus* for remediation of soils contaminated by heavy metals: a case of military and mining sites // *Environ. Sci. Pollut. Res.* - 2019. - Vol. 26, № 13. - P. 13320–13333.
- 113 Zgorelec Z., Bilandzija N., Knez K., Galic M., Zuzul S. Cadmium and Mercury phytostabilization from soil using *Miscanthus x giganteus*: 1 // *Sci. Rep. Nature Publishing Group*, - 2020. - Vol. 10, № 1. - P. 6685.

- 114 Nsanganwimana F., Al Souki K.S., Waterlot C., Douay F., Pelfrêne A., Ridošková A., Louvel B., Pourrut B. Potentials of *Miscanthus x giganteus* for phytostabilization of trace element-contaminated soils: Ex situ experiment // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* - 2021. - Vol. 214. - P. 112125.
- 115 Nurzhanova A., Pidlisnyuk V., Sailaukhanuly Y., Kenessov B., Trogl J., Aligulova R., Kalugin S., Nurmagambetova A., Abit K., Stefanovska T. Phytoremediation of military soil contaminated by metals and organochlorine pesticides using *Miscanthus* // *Commun Agric Appl Biol Sci.* - 2017. - Vol. 82. - P. 61–68.
- 116 Vangronsveld J., Herzig R., Weyens N., Boulet J., Adriaensen K., Ruttens A., Thewys T., Vassilev A., Meers E., Nehnevajova E., van der Lelie D., Mench M. Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field // *Environ. Sci. Pollut. Res.* - 2009. - Vol. 16, № 7. - P. 765–794.
- 117 Zeng F., Chen S., Miao Y., Wu F., Zhang G. Changes of organic acid exudation and rhizosphere pH in rice plants under chromium stress // *Environ. Pollut.* - 2008. - Vol. 155, № 2. - P. 284–289.
- 118 Ma J.F. Role of Organic Acids in Detoxification of Aluminum in Higher Plants // *Plant Cell Physiol.* - 2000. - Vol. 41, № 4. - P. 383–390.
- 119 Hülster A., Marschner H. PCDD/PCDF-complexing compounds in zucchini // *Organohalogen Compd.* - 1995. - Vol. 24. - P. 493–496.
- 120 Campanella B., Paul R. Presence, in the Rhizosphere and Leaf Extracts of Zucchini (*Cucurbita pepo* L.) and Melon (*Cucumis melo* L.), of Molecules Capable of Increasing the Apparent Aqueous Solubility of Hydrophobic Pollutants // *Int. J. Phytoremediation.* Taylor & Francis, - 2000. - Vol. 2, № 2. - P. 145–158.
- 121 White J.C., Mattina M.I., Lee W.-Y., Eitzer B.D., Iannucci-Berger W. Role of organic acids in enhancing the desorption and uptake of weathered p,p'-DDE by *Cucurbita pepo* // *Environ. Pollut.* - 2003. - Vol. 124, № 1. - P. 71–80.
- 122 White J.C., Kottler B.D. Citrate-mediated increase in the uptake of weathered 2,2-bis(p-chlorophenyl)1,1-dichloroethylene residues by plants // *Environ. Toxicol. Chem.* - 2002. - Vol. 21, № 3. - P. 550–556.
- 123 Park J.-W., Boyd S.A. Sorption of Chlorobiphenyls in Sediment—Water Systems Containing Nonionic Surfactants // *J. Environ. Qual.* - 1999. - Vol. 28, № 3. - P. 945–952.
- 124 Gonzalez M., Miglioranza K.S.B., Aizpún J.E., Isla F.I., Peña A. Assessing pesticide leaching and desorption in soils with different agricultural activities from Argentina (Pampa and Patagonia) // *Chemosphere.* - 2010. - Vol. 81, № 3. - P. 351–358.
- 125 Alcántara M.T., Gómez J., Pazos M., Sanromán M.A. PAHs soil decontamination in two steps: Desorption and electrochemical treatment // *J. Hazard. Mater.* - 2009. - Vol. 166, № 1. - P. 462–468.
- 126 Annesini M.C., Memoli A., Petralito S. Kinetics of surfactant-induced release from liposomes: a time-dependent permeability model // *J. Membr. Sci.* - 2000. - Vol. 180, № 1. - P. 121–131.

- 127 Beal J.L., Christensen B.V., Colby A.B. The Effect of Selected Chemicals on the Alkaloidal Yield of *Datura Tatula* Linné\* // *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.* - 1954. - Vol. 43, № 5. - P. 282–287.
- 128 Stowe B.B. Growth Promotion in Pea Epicotyl Sections by Fatty Acid Esters // *Science. American Association for the Advancement of Science*, - 1958. - Vol. 128, № 3321. - P. 421–423.
- 129 Lunney A.I., Rutter A., Zeeb B.A. Effect of Organic Matter Additions on Uptake of Weathered DDT by *Cucurbita pepo* ssp. *pepo* cv. Howden // *Int. J. Phytoremediation*. Taylor & Francis, - 2010. - Vol. 12, № 4. - P. 404–417.
- 130 Denyes M.J., Langlois V.S., Rutter A., Zeeb B.A. The use of biochar to reduce soil PCB bioavailability to *Cucurbita pepo* and *Eisenia fetida* // *Sci. Total Environ.* - 2012. - Vol. 437. - P. 76–82.
- 131 Khalid S., Shahid M., Murtaza B., Bibi I., Natasha, Asif Naeem M., Niazi N.K. A critical review of different factors governing the fate of pesticides in soil under biochar application // *Sci. Total Environ.* - 2020. - Vol. 711. - P. 134645.
- 132 Elzobair K.A., Stromberger M.E., Ippolito J.A. Stabilizing effect of biochar on soil extracellular enzymes after a denaturing stress // *Chemosphere.* - 2016. - Vol. 142. - P. 114–119.
- 133 Ali I. The Quest for Active Carbon Adsorbent Substitutes: Inexpensive Adsorbents for Toxic Metal Ions Removal from Wastewater // *Sep. Purif. Rev.* Taylor & Francis, - 2010. - Vol. 39, № 3–4. - P. 95–171.
- 134 Mohan D., Sarswat A., Ok Y.S., Pittman C.U. Organic and inorganic contaminants removal from water with biochar, a renewable, low cost and sustainable adsorbent – A critical review // *Bioresour. Technol.* - 2014. - Vol. 160. - P. 191–202.
- 135 Gwenzi W., Chaukura N., Noubactep C., Mukome F.N.D. Biochar-based water treatment systems as a potential low-cost and sustainable technology for clean water provision // *J. Environ. Manage.* - 2017. - Vol. 197. - P. 732–749.
- 136 Yehya S., Delannoy M., Fournier A., Baroudi M., Rychen G., Feidt C. Activated carbon, a useful medium to bind chlordecone in soil and limit its transfer to growing goat kids // *PLOS ONE. Public Library of Science*, - 2017. - Vol. 12, № 7. - P. e0179548.
- 137 Xu X., Shi Z., Li D., Rey A., Ruan H., Craine J.M., Liang J., Zhou J., Luo Y. Soil properties control decomposition of soil organic carbon: Results from data-assimilation analysis // *Geoderma.* - 2016. - Vol. 262. - P. 235–242.
- 138 Zimmerman A.R., Gao B., Ahn M.-Y. Positive and negative carbon mineralization priming effects among a variety of biochar-amended soils // *Soil Biol. Biochem.* - 2011. - Vol. 43, № 6. - P. 1169–1179.
- 139 Chai Y., Currie R.J., Davis J.W., Wilken M., Martin G.D., Fishman V.N., Ghosh U. Effectiveness of Activated Carbon and Biochar in Reducing the Availability of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins/Dibenzofurans in Soils // *Environ. Sci. Technol.* American Chemical Society, - 2012. - Vol. 46, № 2. - P. 1035–1043.
- 140 Denyes M.J., Rutter A., Zeeb B.A. In situ application of activated carbon and biochar to PCB-contaminated soil and the effects of mixing regime // *Environ. Pollut.* - 2013. - Vol. 182. - P. 201–208.

- 141 Adeleye A.S., Keller A.A., Miller R.J., Lenihan H.S. Persistence of commercial nanoscaled zero-valent iron (nZVI) and by-products // *J. Nanoparticle Res.* - 2013. - Vol. 15, № 1. - P. 1418.
- 142 Tian H., Li J., Mu Z., Li L., Hao Z. Effect of pH on DDT degradation in aqueous solution using bimetallic Ni/Fe nanoparticles // *Sep. Purif. Technol.* - 2009. - Vol. 66, № 1. - P. 84–89.
- 143 Gautam S.K., Suresh S. Studies on dechlorination of DDT (1,1,1-trichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)ethane) using magnesium/palladium bimetallic system // *J. Hazard. Mater.* - 2007. - Vol. 139, № 1. - P. 146–153.
- 144 El-Temsah Y.S., Sevcu A., Bobcikova K., Cernik M., Joner E.J. DDT degradation efficiency and ecotoxicological effects of two types of nano-sized zero-valent iron (nZVI) in water and soil // *Chemosphere.* - 2016. - Vol. 144. - P. 2221–2228.
- 145 Senthilnathan J., Philip L. Removal of Mixed Pesticides from Drinking Water System Using Surfactant-Assisted Nano-TiO<sub>2</sub> // *Water. Air. Soil Pollut.* - 2010. - Vol. 210, № 1. - P. 143–154.
- 146 Paknikar K.M., Nagpal V., Pethkar A.V., Rajwade J.M. Degradation of lindane from aqueous solutions using iron sulfide nanoparticles stabilized by biopolymers // *Sci. Technol. Adv. Mater. Taylor & Francis*, - 2005. - Vol. 6, № 3–4. - P. 370–374.
- 147 Pillai H.P.S., Kottekkottil J. Nano-Phytotechnological Remediation of Endosulfan Using Zero Valent Iron Nanoparticles: 05 // *J. Environ. Prot. Scientific Research Publishing*, - 2016. - Vol. 07, № 05. - P. 734.
- 148 Nurzhanova A., Mamirova A., Trögl J., Nebeská D., Pidlisnyuk V.V. Plant–Microbe Associations in Phytoremediation // *Phytotechnology with Biomass Production: Sustainable Management of Contaminated Sites* / ed. Erickson L.E., Pidlisnyuk V.V. CRC press Taylor & Francis Group, - 2021. - P. 123–140.
- 149 Blagodatskaya E., Kuzyakov Y. Active microorganisms as drivers of dynamic processes in soil: integration of basic teaching into research. - 2013. - Vol. 15. - P. EGU2013-3495.
- 150 Ryan R.P., Germaine K., Franks A., Ryan D.J., Dowling D.N. Bacterial endophytes: recent developments and applications // *FEMS Microbiol. Lett.* - 2008. - Vol. 278, № 1. - P. 1–9.
- 151 Germaine K.J., Liu X., Cabellos G.G., Hogan J.P., Ryan D., Dowling D.N. Bacterial endophyte-enhanced phytoremediation of the organochlorine herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid // *FEMS Microbiol. Ecol.* - 2006. - Vol. 57, № 2. - P. 302–310.
- 152 Afzal M., Yousaf S., Reichenauer T.G., Sessitsch A. The Inoculation Method Affects Colonization and Performance of Bacterial Inoculant Strains in the Phytoremediation of Soil Contaminated with Diesel Oil // *Int. J. Phytoremediation. Taylor & Francis*, - 2012. - Vol. 14, № 1. - P. 35–47.
- 153 Wang L., Wang W., Lai Q., Shao Z. Gene diversity of CYP153A and AlkB alkane hydroxylases in oil-degrading bacteria isolated from the Atlantic Ocean // *Environ. Microbiol.* - 2010. - Vol. 12, № 5. - P. 1230–1242.

- 154 Weyens N., van der Lelie D., Taghavi S., Vangronsveld J. Phytoremediation: plant–endophyte partnerships take the challenge // *Curr. Opin. Biotechnol.* - 2009. - Vol. 20, № 2. - P. 248–254.
- 155 Yousaf S., Afzal M., Reichenauer T.G., Brady C.L., Sessitsch A. Hydrocarbon degradation, plant colonization and gene expression of alkane degradation genes by endophytic *Enterobacter ludwigii* strains // *Environ. Pollut.* - 2011. - Vol. 159, № 10. - P. 2675–2683.
- 156 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 // *Int. J. Phytoremediation*. Taylor & Francis, - 2017. - Vol. 19, № 6. - P. 522–529.
- 157 Zeng W., Li F., Wu C., Yu R., Wu X., Shen L., Liu Y., Qiu G., Li J. Role of extracellular polymeric substance (EPS) in toxicity response of soil bacteria *Bacillus* sp. S3 to multiple heavy metals // *Bioprocess Biosyst. Eng.* - 2020. - Vol. 43, № 1. - P. 153–167.
- 158 Ndeddy Aka R.J., Babalola O.O. Effect of bacterial inoculation of strains of *Pseudomonas aeruginosa*, *Alcaligenes faecalis* and *Bacillus subtilis* on germination, growth and heavy metal (Cd, Cr, and Ni) uptake of *Brassica juncea* // *Int. J. Phytoremediation*. Taylor & Francis, - 2016. - Vol. 18, № 2. - P. 200–209.
- 159 Khan W.-D., Ramzani P.M.A., Anjum S., Abbas F., Iqbal M., Yasar A., Ihsan M.Z., Anwar M.N., Baqar M., Tauqeer H.M., Virk Z.A., Khan S.A. Potential of *Miscanthus* biochar to improve sandy soil health, in situ nickel immobilization in soil and nutritional quality of spinach // *Chemosphere*. - 2017. - Vol. 185. - P. 1144–1156.
- 160 Ma Y., Rajkumar M., Rocha I., Oliveira R.S., Freitas H. Serpentine bacteria influence metal translocation and bioconcentration of *Brassica juncea* and *Ricinus communis* grown in multi-metal polluted soils // *Front. Plant Sci. Frontiers*, - 2015. - Vol. 5.
- 161 Babu A.G., Shea P.J., Sudhakar D., Jung I.-B., Oh B.-T. Potential use of *Pseudomonas koreensis* AGB-1 in association with *Miscanthus sinensis* to remediate heavy metal(loid)-contaminated mining site soil // *J. Environ. Manage.* - 2015. - Vol. 151. - P. 160–166.
- 162 Schmidt C.S., Mrnka L., Frantík T., Lovecká P., Vosátka M. Plant growth promotion of *Miscanthus × giganteus* by endophytic bacteria and fungi on non-polluted and polluted soils // *World J. Microbiol. Biotechnol.* - 2018. - Vol. 34, № 3. - P. 48.
- 163 Pidlisnyuk V., Newton R.A., Mamirova A. *Miscanthus* biochar value chain - A review // *J. Environ. Manage.* - 2021. - Vol. 290. - P. 112611.
- 164 Danielewicz D., Dybka-Stępień K., Surma-Ślusarska B. Processing of *Miscanthus × giganteus* stalks into various soda and kraft pulps. Part I: Chemical composition, types of cells and pulping effects // *Cellulose*. - 2018. - Vol. 25, № 11. - P. 6731–6744.
- 165 Liu Q., Chmely S.C., Abdoumoumine N. Biomass Treatment Strategies for Thermochemical Conversion // *Energy Fuels*. American Chemical Society, - 2017. - Vol. 31, № 4. - P. 3525–3536.

- 166 Moll L., Wever C., Völkerling G., Pude R. Increase of Miscanthus Cultivation with New Roles in Materials Production—A Review: 2 // *Agronomy. Multidisciplinary Digital Publishing Institute*, - 2020. - Vol. 10, № 2. - P. 308.
- 167 Witzel C.-P., Finger R. Economic evaluation of Miscanthus production – A review // *Renew. Sustain. Energy Rev.* - 2016. - Vol. 53. - P. 681–696.
- 168 Andrejić G., Šinžar-Sekulić J., Prica M., Dželetović Ž., Rakić T. Phytoremediation potential and physiological response of *Miscanthus × giganteus* cultivated on fertilized and non-fertilized flotation tailings // *Environ. Sci. Pollut. Res.* - 2019. - Vol. 26, № 33. - P. 34658–34669.
- 169 Kavitha B., Reddy P.V.L., Kim B., Lee S.S., Pandey S.K., Kim K.-H. Benefits and limitations of biochar amendment in agricultural soils: A review // *J. Environ. Manage.* - 2018. - Vol. 227. - P. 146–154.
- 170 Shaaban M., Van Zwieten L., Bashir S., Younas A., Núñez-Delgado A., Chhajro M.A., Kubar K.A., Ali U., Rana M.S., Mehmood M.A., Hu R. A concise review of biochar application to agricultural soils to improve soil conditions and fight pollution // *J. Environ. Manage.* - 2018. - Vol. 228. - P. 429–440.
- 171 Khorram M.S., Zhang Q., Lin D., Zheng Y., Fang H., Yu Y. Biochar: A review of its impact on pesticide behavior in soil environments and its potential applications // *J. Environ. Sci.* - 2016. - Vol. 44. - P. 269–279.
- 172 Budai A., Wang L., Gronli M., Strand L.T., Antal M.J., Abiven S., Dieguez-Alonso A., Anca-Couce A., Rasse D.P. Surface Properties and Chemical Composition of Corncob and Miscanthus Biochars: Effects of Production Temperature and Method // *J. Agric. Food Chem. American Chemical Society*, - 2014. - Vol. 62, № 17. - P. 3791–3799.
- 173 Zhang Y., Cui Y., Chen P., Liu S., Zhou N., Ding K., Fan L., Peng P., Min M., Cheng Y., Wang Y., Wan Y., Liu Y., Li B., Ruan R. Chapter 14 - Gasification Technologies and Their Energy Potentials // *Sustainable Resource Recovery and Zero Waste Approaches* / ed. Taherzadeh M.J., Bolton K., Wong J., Pandey A. Elsevier, - 2019. - P. 193–206.
- 174 Zheng W., Sharma B.K., Rajagopalan N. Using Biochar as a Soil Amendment for Sustainable Agriculture: 7276. - 2010. - P. 1–36.
- 175 Gabhane J.W., Bhange V.P., Patil P.D., Bankar S.T., Kumar S. Recent trends in biochar production methods and its application as a soil health conditioner: a review // *SN Appl. Sci.* - 2020. - Vol. 2, № 7. - P. 1307–1328.
- 176 Wilk M., Magdziarz A. Hydrothermal carbonization, torrefaction and slow pyrolysis of *Miscanthus giganteus* // *Energy*. - 2017. - Vol. 140. - P. 1292–1304.
- 177 Tomczyk A., Sokołowska Z., Boguta P. Biochar physicochemical properties: pyrolysis temperature and feedstock kind effects // *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* - 2020. - Vol. 19, № 1. - P. 191–215.
- 178 Houben D., Evrard L., Sonnet P. Beneficial effects of biochar application to contaminated soils on the bioavailability of Cd, Pb and Zn and the biomass production of rapeseed (*Brassica napus* L.) // *Biomass Bioenergy*. - 2013. - Vol. 57. - P. 196–204.
- 179 Houben D., Evrard L., Sonnet P. Mobility, bioavailability and pH-dependent leaching of cadmium, zinc and lead in a contaminated soil amended with biochar // *Chemosphere*. - 2013. - Vol. 92, № 11. - P. 1450–1457.

- 180 Wagner A., Kaupenjohann M. Biochar addition enhanced growth of *Dactylis glomerata* L. and immobilized Zn and Cd but mobilized Cu and Pb on a former sewage field soil // *Eur. J. Soil Sci.* - 2015. - Vol. 66, № 3. - P. 505–515.
- 181 Novak J.M., Ippolito J.A., Ducey T.F., Watts D.W., Spokas K.A., Trippe K.M., Sigua G.C., Johnson M.G. Remediation of an acidic mine spoil: *Miscanthus* biochar and lime amendment affects metal availability, plant growth, and soil enzyme activity // *Chemosphere.* - 2018. - Vol. 205. - P. 709–718.
- 182 Janus A., Waterlot C., Douay F., Pelfrêne A. Ex situ evaluation of the effects of biochars on environmental and toxicological availabilities of metals and polycyclic aromatic hydrocarbons // *Environ. Sci. Pollut. Res.* - 2020. - Vol. 27, № 2. - P. 1852–1869.
- 183 Mierzwa-Hersztek M., Gondek K., Klimkowicz-Pawlas A., Baran A. Effect of wheat and *Miscanthus* straw biochars on soil enzymatic activity, ecotoxicity, and plant yield // *Int. Agrophysics. De Gruyter Poland,* - 2017. - Vol. 31, № 3. - P. 367–375.
- 184 Kwapinski W., Byrne C.M., Kryachko E., Wolfram P., Adley C., Leahy J.J., Novotny E.H., Hayes M.H. Biochar from biomass and waste // *Waste Biomass Valorization.* Springer, - 2010. - Vol. 1, № 2. - P. 177–189.
- 185 Prendergast-Miller M.T., Duvall M., Sohi S.P. Biochar–root interactions are mediated by biochar nutrient content and impacts on soil nutrient availability // *Eur. J. Soil Sci.* - 2014. - Vol. 65, № 1. - P. 173–185.
- 186 Eibisch N., Schroll R., Fuß R., Mikutta R., Helfrich M., Flessa H. Pyrochars and hydrochars differently alter the sorption of the herbicide isoproturon in an agricultural soil // *Chemosphere.* - 2015. - Vol. 119. - P. 155–162.
- 187 Mendes C.V.T., Carvalho M.G.V.S., Baptista C.M.S.G., Rocha J.M.S., Soares B.I.G., Sousa G.D.A. Valorisation of hardwood hemicelluloses in the kraft pulping process by using an integrated biorefinery concept // *Food Bioprod. Process.* - 2009. - Vol. 87, № 3. - P. 197–207.
- 188 ISO 18400-203:2018. Soil quality — Sampling — Part 203: Investigation of potentially contaminated sites. ISO/TC 190/SC 7 Impact assessment, - 2018. - P. 32.
- 189 FAO. World Reference Base for Soil Resources 2014: International soil classification systems for naming soils and creating legends for soil maps (Update 2015): 106. Rome, Italy: World Soil Resources, - 2014.
- 190 GOST 26213-91. Soil. Determination of humus by the Tyurin method. - 1991.
- 191 GOST 26207-91. Soil. Determination of the mobile compounds of phosphorus and potassium by Kirsanov method, modified by CRIAAS. - 1991.
- 192 GOST 26423-85. Methods for determination of electrical conductivity, pH of salt regime and solid residue of salt extract. - 1985.
- 193 DSTU 7632:2014. Greenhouse soils. Method for the determination of organic matter. Kyiv, Ukraine: DP “UkrNDNC,” - 2014. - P. 18.
- 194 DSTU 7863:2015. Soil quality. Determination of light hydrolyzed nitrogen by the Kornfield method. - 2015.
- 195 DSTU 4115:2002. Soils. Determination of mobile phosphorus and potassium compounds by the modified Chirikov’s method: DSTU 4115:2002. Kyiv, Ukraine: DP “UkrNDNC,” - 2003. - P. 12.

- 196 GOST 26487-85. Soils. Determination of exchangeable calcium and exchangeable (mobile) magnesium by CINAO methods. Minsk: CINAO, - 1986.
- 197 DSTU 8346:2015. Soil quality. Methods for the determination of conductivity, pH and dense residue of the aqueous extract. - 2015.
- 198 Pranaw K., Pidlisnyuk V., Trögl J., Malinská H. Bioprospecting of a Novel Plant Growth-Promoting Bacterium *Bacillus altitudinis* KP-14 for Enhancing *Miscanthus × giganteus* Growth in Metals Contaminated Soil: 9 // *Biology. Multidisciplinary Digital Publishing Institute*, - 2020. - Vol. 9, № 9. - P. 305.
- 199 Gavrilenko V., Ladygina M., Khandobina L. Large workshop on plant physiology. Photosynthesis. Respiration. Moscow, Russia: Higher School., - 1975.
- 200 ST RK 2131-2011. Soil quality. Determination of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls content. Gas chromatographic method with electron capture detection. - 2012.
- 201 ST RK 2011-2010. Water, food, feed and tobacco. Determination of organochlorine pesticides by chromatographic methods. - 2010.
- 202 Turner R.G., Marshall C. The Accumulation of Zinc by Subcellular Fractions of Roots of *Agrostis Tenuis* Sibth. in Relation to Zinc Tolerance // *New Phytol.* - 1972. - Vol. 71, № 4. - P. 671–676.
- 203 Wilkins D.A. The Measurement of Tolerance to Edaphic Factors by Means of Root Growth // *New Phytol.* - 1978. - Vol. 80, № 3. - P. 623–633.
- 204 Zayed A., Gowthaman S., Terry N. Phytoaccumulation of Trace Elements by Wetland Plants: I. Duckweed // *J. Environ. Qual.* - 1998. - Vol. 27, № 3. - P. 715–721.
- 205 Yanqun Z., Yuan L., Jianjun C., Haiyan C., Li Q., Schwartz C. Hyperaccumulation of Pb, Zn and Cd in herbaceous grown on lead–zinc mining area in Yunnan, China // *Environ. Int.* - 2005. - Vol. 31, № 5. - P. 755–762.
- 206 Chorom M., Parnian A., Jaafarzadeh N. Nickel removal by the aquatic plant (*Ceratophyllum demersum* L.) // *Int. J. Environ. Sci. Dev. Citeseer*, - 2012. - Vol. 3, № 4. - P. 372.
- 207 Grycova B., Prysycz A., Lestinsky P., Chamradova K. Preparation and characterization of sorbents from food waste // *Green Process. Synth. De Gruyter*, - 2017. - Vol. 6, № 3. - P. 287–293.
- 208 ASTM D1762-84. Standard Test Method for Chemical Analysis of Wood Charcoal: ICS Code: 75.160.10. USA: American Society for Testing and Materials, - 2021. - P. 2.
- 209 ASTM D5373-21. Standard Test Methods for Determination of Carbon, Hydrogen and Nitrogen in Analysis Samples of Coal and Carbon in Analysis Samples of Coal and Coke: ICS Code: 75.160.10. USA: American Society for Testing and Materials, - 2021. - P. 11.
- 210 ASTM E711-87. Standard Test Method for Gross Calorific Value of Refuse-Derived Fuel by the Bomb Calorimeter (Withdrawn 2004): ICS Code: 75.160.10. USA: American Society for Testing and Materials, - 2012. - P. 9.
- 211 IBI. IBI Biochar Standards: Standardized Product Definition and Product Testing. Version 2.1: Product Definition and Specification Standards IBI-STD-2.1. International Biochar Initiative, - 2015. - P. 61.

- 212 MECR. Ministry of the Environment of the Czech Republic. Decree laying down detailed rules for the protection of quality of agricultural land and amending. Decree specifying some details of agricultural land resources protection.: Decree No. 153/2016. Czech Republic: Ministry of the Environment of the Czech Republic (MECR), - 2016.
- 213 Meysurova A.F., Notov A.A., Pungin A.V. Photosynthetic Pigments in Hypogymnia Physodes with Different Metal Contents // *J. Appl. Spectrosc.* - 2018. - Vol. 84, № 6. - P. 1037–1043.
- 214 Ben Fradj N., Rozakis S., Borzęcka M., Matyka M. Miscanthus in the European bio-economy: A network analysis // *Ind. Crops Prod.* - 2020. - Vol. 148. - P. 112281.
- 215 Lewandowski I., Clifton-Brown J.C., Scurlock J.M.O., Huisman W. Miscanthus: European experience with a novel energy crop // *Biomass Bioenergy.* - 2000. - Vol. 19, № 4. - P. 209–227.
- 216 Arnoult S., Obeuf A., Béthencourt L., Mansard M.-C., Brancourt-Hulmel M. Miscanthus clones for cellulosic bioethanol production: Relationships between biomass production, biomass production components, and biomass chemical composition // *Ind. Crops Prod.* - 2015. - Vol. 63. - P. 316–328.
- 217 Velasquez J., Ferrando F., Salvadó J. Binderless fiberboard from steam exploded *Miscanthus sinensis*: The effect of a grinding process // *Holz Als Roh- Werkst.* Springer, - 2002. - Vol. 60, № 4. - P. 297–302.
- 218 FAO. Obsolete Pesticides: Inventory and environmental risk assessment: online. Food and Agriculture Organization, - 2014.
- 219 Ren C., Wang T., Xu Y., Deng J., Zhao F., Yang G., Han X., Feng Y., Ren G. Differential soil microbial community responses to the linkage of soil organic carbon fractions with respiration across land-use changes // *For. Ecol. Manag.* - 2018. - Vol. 409. - P. 170–178.
- 220 Aislabie J., Lloyd-Jones G. A review of bacterial-degradation of pesticides // *Soil Res.* CSIRO PUBLISHING, - 1995. - Vol. 33, № 6. - P. 925–942.
- 221 Andersen A., Kasperlik-Zaluska A.A., Warren D.J. Determination of Mitotane (o,p'-DDD) and its Metabolites o,p'-DDA and o,p'-DDE in Plasma by High-Performance Liquid Chromatography // *Ther. Drug Monit.* - 1999. - Vol. 21, № 3. - P. 355.
- 222 Gobas F.A.P.C., Kelly B.C., Arnot J.A. Quantitative Structure Activity Relationships for Predicting the Bioaccumulation of POPs in Terrestrial Food-Webs // *QSAR Comb. Sci.* - 2003. - Vol. 22, № 3. - P. 329–336.
- 223 Abou Jaoude L., Castaldi P., Nassif N., Pinna M.V., Garau G. Biochar and compost as gentle remediation options for the recovery of trace elements-contaminated soils // *Sci. Total Environ.* - 2020. - Vol. 711. - P. 134511.
- 224 Küpper H., Kroneck P.M. Nickel in the environment and its role in the metabolism of plants and cyanobacteria // *Met. Ions Life Sci.* Wiley Chichester, - 2007. - Vol. 2. - P. 31–62.
- 225 Seigneur C., Constantinou E. Chemical kinetic mechanism for atmospheric chromium // *Environ. Sci. Technol.* ACS Publications, - 1995. - Vol. 29, № 1. - P. 222–231.

- 226 Teng Y., Jiao X., Wang J., Xu W., Yang J. Environmentally geochemical characteristics of vanadium in the topsoil in the Panzhihua mining area, Sichuan Province, China // *Chin. J. Geochem.* - 2009. - Vol. 28, № 1. - P. 105–111.
- 227 Baker A.J.M. Accumulators and excluders -strategies in the response of plants to heavy metals // *J. Plant Nutr.* Taylor & Francis, - 1981. - Vol. 3, № 1–4. - P. 643–654.
- 228 García G., Faz Á., Cunha M. Performance of *Piptatherum miliaceum* (Smilo grass) in edaphic Pb and Zn phytoremediation over a short growth period // *Int. Biodeterior. Biodegrad.* - 2004. - Vol. 54, № 2. - P. 245–250.
- 229 Han Y., Zhang L., Gu J., Zhao J., Fu J. Citric acid and EDTA on the growth, photosynthetic properties and heavy metal accumulation of *Iris halophila* Pall. cultivated in Pb mine tailings // *Int. Biodeterior. Biodegrad.* - 2018. - Vol. 128. - P. 15–21.
- 230 Ma Y., Rajkumar M., Zhang C., Freitas H. Inoculation of *Brassica oxyrrhina* with plant growth promoting bacteria for the improvement of heavy metal phytoremediation under drought conditions // *J. Hazard. Mater.* - 2016. - Vol. 320. - P. 36–44.
- 231 Chen L., Luo S., Li X., Wan Y., Chen J., Liu C. Interaction of Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and functional endophyte *Pseudomonas* sp. Lk9 on soil heavy metals uptake // *Soil Biol. Biochem.* - 2014. - Vol. 68. - P. 300–308.
- 232 Ipek M., Pirlak L., Esitken A., Dönmez M.F., Turan M., Sahin F. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (Pgpr) Increase Yield, Growth And Nutrition Of Strawberry Under High-Calcareous Soil Conditions // *J. Plant Nutr.* Taylor & Francis, - 2014. - Vol. 37, № 7. - P. 990–1001.
- 233 Gullap M.K., Dasci M., Erkovan H.İ., Koc A., Turan M. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Phosphorus Fertilizer-Assisted Phytoextraction of Toxic Heavy Metals from Contaminated Soils // *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* Taylor & Francis, - 2014. - Vol. 45, № 19. - P. 2593–2606.
- 234 Ouni Y., Mateos-Naranjo E., Abdelly C., Lakhdar A. Interactive effect of salinity and zinc stress on growth and photosynthetic responses of the perennial grass, *Polypogon monspeliensis* // *Ecol. Eng.* - 2016. - Vol. 95. - P. 171–179.
- 235 Kang S.-M., Shahzad R., Bilal S., Khan A.L., You Y.-H., Lee W.-H., Ryu H.-L., Lee K.-E., Lee I.-J. Metabolism-mediated induction of zinc tolerance in *Brassica rapa* by *Burkholderia cepacia* CS2-1 // *J. Microbiol.* Springer, - 2017. - Vol. 55, № 12. - P. 955–965.
- 236 Luo Y., Lin Q., Durenkamp M., Dungait A., Brookes P. Soil priming effects following substrates addition to biochar-treated soils after 431 days of pre-incubation // *Biol. Fertil. Soils.* Springer, - 2017. - Vol. 53, № 3. - P. 315–326.
- 237 Rasse D.P., Budai A., O’Toole A., Ma X., Rumpel C., Abiven S. Persistence in soil of *Miscanthus* biochar in laboratory and field conditions // *PLOS ONE.* Public Library of Science, - 2017. - Vol. 12, № 9. - P. e0184383.

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А.1 - Концентрация пигментов хлоровилла в листьях *M. sinensis*

Вариант опыта	<i>Chla</i> , мг Л <sup>-1</sup>	<i>Chlb</i> , мг Л <sup>-1</sup>	<i>Car</i> , мг Л <sup>-1</sup>
Контроль	19.30	3.92	8.07
Загрязненная почва (ЗП)	17.45	3.23	7.50
ЗП + Tween 20	10.45	1.59	5.07
ЗП + АУ	21.36	3.80	8.77
	<i>Chla+b</i> , мг Л <sup>-1</sup>	<i>Chla/b</i> , мг Л <sup>-1</sup>	<i>Chla+b/Car</i> , мг Л <sup>-1</sup>
Контроль	22.68	4.92	2.81
Загрязненная почва (ЗП)	20.19	5.41	2.69
ЗП + Tween 20	11.75	6.59	2.32
ЗП + АУ	24.57	5.62	2.80

Таблица А.2 – Концентрация ХОП, аккумулированных в тканях *M. sinensis*. Разные буквы в пределах одного ХОП указывают на наличие статистически достоверной разницы

ХОП	Часть растения	Загрязненная почва, мкг кг <sup>-1</sup>	ЗП + Tween 20, мкг кг <sup>-1</sup>	ЗП + АУ, мкг кг <sup>-1</sup>	<i>p</i> -value
1	2	3	4	5	6
2.4-ДДД	НЗБ	3 477 ± 380 <b>d</b>	1 388 ± 57.0 <b>e</b>	1 360 ± 68.8 <b>e</b>	< 0.001
	Корни	5 000 ± 333 <b>c</b>	14 630 ± 975 <b>a</b>	6 957 ± 464 <b>b</b>	
4.4-ДДД	НЗБ	7 489 ± 938 <b>b</b>	2 905 ± 27.8 <b>c</b>	2 502 ± 127 <b>c</b>	< 0.001
	Корни	6 447 ± 430 <b>b</b>	30 052 ± 2 003 <b>a</b>	6 431 ± 429 <b>b</b>	
4.4-ДДЭ	НЗБ	793 ± 73.0 <b>d</b>	437 ± 2.25 <b>e</b>	429 ± 10.4 <b>e</b>	< 0.001
	Корни	1 611 ± 107 <b>c</b>	3477 ± 232 <b>a</b>	2 333 ± 156 <b>b</b>	
4.4-ДДТ	НЗБ	14 991 ± 1529 <b>b</b>	3 627 ± 279 <b>c</b>	6 072 ± 171 <b>c</b>	< 0.001
	Корни	12 721 ± 848 <b>b</b>	53 754 ± 3 584 <b>a</b>	13 430 ± 895 <b>b</b>	
α-ГХЦГ	НЗБ	10.7 ± 3.55 <b>c</b>	13.5 ± 2.77 <b>bc</b>	20.6 ± 5.20 <b>ab</b>	< 0.01
	Корни	10.1 ± 0.67 <b>c</b>	ND	24.4 ± 1.63 <b>a</b>	
β-ГХЦГ	НЗБ	167 ± 29.0 <b>a</b>	38.6 ± 0.29 <b>c</b>	51 ± 1.47 <b>c</b>	< 0.001
	Корни	41.3 ± 2.75 <b>c</b>	120 ± 8.02 <b>b</b>	37.1 ± 2.47 <b>c</b>	
γ-ГХЦГ	НЗБ	521 ± 72.4 <b>a</b>	5.3 ± 0.0 <b>b</b>	9.6 ± 1.80 <b>b</b>	< 0.001
	Корни	6.20 ± 0.41 <b>b</b>	17.5 ± 1.17 <b>b</b>	13.2 ± 0.88 <b>b</b>	
δ-ГХЦГ	НЗБ	35.4 ± 5.90 <b>ab</b>	9.75 ± 1.27 <b>c</b>	13.1 ± 0.65 <b>c</b>	< 0.001
	Корни	7.90 ± 0.53 <b>c</b>	39.2 ± 2.61 <b>a</b>	29.2 ± 1.95 <b>b</b>	
Альдрин	НЗБ	376 ± 35.2 <b>b</b>	161 ± 8.04 <b>d</b>	233 ± 19.1 <b>cd</b>	< 0.001
	Корни	291 ± 19.4 <b>bc</b>	1 295 ± 86.3 <b>a</b>	194 ± 12.9 <b>cd</b>	
Гексабром-бензен	НЗБ	418 ± 56.3 <b>b</b>	75.5 ± 18.0 <b>d</b>	27.7 ± 0.03 <b>d</b>	< 0.001
	Корни	280 ± 18.7 <b>c</b>	810 ± 54.0 <b>a</b>	324 ± 21.6 <b>bc</b>	
Гептахлор	НЗБ	584 ± 51.8 <b>b</b>	219 ± 11.0 <b>c</b>	308 ± 31.4 <b>c</b>	< 0.001
	Корни	291 ± 19.4 <b>c</b>	928 ± 61.9 <b>a</b>	318 ± 21.2 <b>c</b>	
Гептахлор эпоксид	НЗБ	615 ± 47.4 <b>c</b>	241 ± 26.6 <b>e</b>	368 ± 29.8 <b>de</b>	< 0.001
	Корни	488 ± 32.6 <b>cd</b>	2 058 ± 137 <b>a</b>	959 ± 63.9 <b>b</b>	

Продолжение Таблицы А.2

1	2	3	4	5	6
ГХБ	НЗБ	135 ± 34.7 <b>a</b>	25.2 ± 1.90 <b>b</b>	33.7 ± 2.98 <b>b</b>	< 0.001
	Корни	25.6 ± 1.71 <b>b</b>	33.7 ± 2.25 <b>b</b>	20.8 ± 1.39 <b>b</b>	
Дибутил хлорэндат	НЗБ	227 ± 53.1 <b>b</b>	25.1 ± 13.4 <b>c</b>	16.8 ± 4.74 <b>c</b>	< 0.001
	Корни	183 ± 12.2 <b>b</b>	887 ± 59.2 <b>a</b>	216 ± 14.4 <b>b</b>	
Дикофол (Кельтан)	НЗБ	172 ± 15.8 <b>d</b>	94.3 ± 2.45 <b>d</b>	93.3 ± 3.31 <b>d</b>	< 0.001
	Корни	2 296 ± 153 <b>b</b>	570.6 ± 38.0 <b>c</b>	3 491 ± 233 <b>a</b>	
Дильдрин	НЗБ	2 810 ± 320 <b>b</b>	1 086 ± 49.8 <b>c</b>	1 227 ± 49.1 <b>c</b>	< 0.001
	Корни	2 399 ± 160 <b>b</b>	10 514 ± 701 <b>a</b>	1 954 ± 130 <b>bc</b>	
Метоксихлор	НЗБ	1 697 ± 138 <b>b</b>	299 ± 18.0 <b>c</b>	498 ± 27.7 <b>c</b>	< 0.001
	Корни	1 454 ± 96.9 <b>b</b>	3 491 ± 233 <b>a</b>	1 627 ± 108 <b>b</b>	
Хлорбензилат	НЗБ	1 097 ± 116 <b>b</b>	265 ± 0.08 <b>c</b>	391 ± 19.8 <b>c</b>	< 0.001
	Корни	1 088 ± 72.5 <b>b</b>	3 329 ± 227 <b>a</b>	379 ± 25.3 <b>c</b>	
Хлордан	НЗБ	813 ± 112 <b>c</b>	262 ± 12.5 <b>d</b>	395 ± 10.8 <b>d</b>	< 0.001
	Корни	1 727 ± 115 <b>b</b>	3 324 ± 222 <b>a</b>	456 ± 30.4 <b>d</b>	
Эндосульфан α	НЗБ	2 471 ± 231 <b>d</b>	1 637 ± 175 <b>de</b>	1 232 ± 20.8 <b>e</b>	< 0.001
	Корни	5 968 ± 398 <b>c</b>	10 510 ± 701 <b>a</b>	9 008 ± 601 <b>b</b>	
Эндосульфан β	НЗБ	496 ± 54.4 <b>c</b>	233 ± 7.76 <b>d</b>	166 ± 8.76 <b>d</b>	< 0.001
	Корни	663 ± 44.2 <b>c</b>	1 898 ± 127 <b>a</b>	864 ± 57.6 <b>b</b>	
Эндосульфан сульфат	НЗБ	2 573 ± 295 <b>b</b>	1 081 ± 127 <b>c</b>	758 ± 17.0 <b>c</b>	< 0.001
	Корни	2 144 ± 143 <b>b</b>	10 655 ± 710 <b>a</b>	2 587 ± 172 <b>b</b>	
Эндрин	НЗБ	6 121 ± 550 <b>b</b>	2 884 ± 201 <b>c</b>	2 651 ± 112 <b>c</b>	< 0.001
	Корни	5 251 ± 350 <b>b</b>	22 180 ± 1 479 <b>a</b>	4 287 ± 286 <b>bc</b>	
Эндрин альдегид	НЗБ	1 324 ± 152 <b>b</b>	577 ± 56.1 <b>c</b>	418 ± 21.4 <b>c</b>	< 0.001
	Корни	1 197 ± 79.8 <b>b</b>	5 291 ± 353 <b>a</b>	1 255 ± 83.7 <b>b</b>	

Таблица А.3 - Индекс поглощения (UI) ХОП, аккумулированных в тканях *M. sinensis* (ЗП – загрязненная почва), рассчитанный на одно растение

ХОП	НЗБ, мкг			Корневая система, мкг			Всего, мкг		
	ЗП	Т20	АУ	ЗП	Т20	АУ	ЗП	Т20	АУ
2.4-ДДД	20.2	7.63	8.43	29.0	30.7	20.2	49.2	38.3	28.6
4.4-ДДД	43.4	16.0	15.5	37.4	63.1	18.7	80.8	79.1	34.2
4.4-ДДЭ	4.60	2.40	2.66	9.35	7.30	6.77	14.0	9.70	9.43
4.4-ДДТ	86.9	19.9	37.6	73.8	112.9	38.9	161	133	76.5
$\alpha$ -ГХЦГ	0.06	0.07	0.13	0.06	-	0.07	0.12	0.07	0.20
$\beta$ -ГХЦГ	0.97	0.21	0.32	0.24	0.25	0.11	1.21	0.46	0.43
$\gamma$ -ГХЦГ	3.02	0.03	0.06	0.04	0.04	0.04	3.06	0.07	0.10
$\delta$ -ГХЦГ	0.21	0.05	0.08	0.05	0.08	0.08	0.26	0.13	0.16
Альдрин	2.18	0.89	1.44	1.69	2.72	0.56	3.87	3.61	2.00
Гексабромбензен	2.43	0.42	0.17	1.63	1.70	0.94	4.06	2.12	1.11
Гептахлор	3.39	1.20	1.91	1.69	1.95	0.92	5.08	3.15	2.83
Гептахлор эпоксид	3.56	1.33	2.28	2.83	4.32	2.78	6.39	5.65	5.06
ГХБ	0.78	0.14	0.21	0.15	0.07	0.06	0.93	0.21	0.27
Дибутил хлорэндат	1.32	0.14	0.10	1.06	1.86	0.63	2.38	2.00	0.73
Дикофол (Кельтан)	1.00	0.52	0.58	13.3	1.20	10.1	14.3	1.72	10.7
Дильдрин	16.3	5.97	7.61	13.9	22.1	5.67	30.2	28.1	13.3
Метоксихлор	9.84	1.65	3.09	8.43	7.33	4.72	18.3	8.98	7.81
Хлорбензилат	6.36	1.46	2.43	6.31	6.99	1.10	12.7	8.45	3.53
Хлордан	4.72	1.44	2.45	10.0	6.98	1.32	14.7	8.42	3.77
Эндосульфан $\alpha$	14.3	9.00	7.64	34.6	22.1	26.1	48.9	31.1	33.7
Эндосульфан $\beta$	2.87	1.30	1.03	3.84	3.99	2.51	6.71	5.29	3.54
Эндосульфан сульфат	14.9	5.94	4.70	12.4	22.4	7.50	27.3	28.3	12.2
Эндрин	35.5	15.9	16.4	30.5	46.6	12.4	66.0	62.5	28.8
Эндрин альдегид	7.68	3.18	2.59	6.94	11.1	3.64	14.6	14.3	6.23