

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «РОССИЙСКИЙ ХИМИКО-
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Д.И. МЕНДЕЛЕЕВА»



На правах рукописи

Харитонов Александр Эдуардович

**Разработка методологического подхода для определения
фитотолерантности к токсическому воздействию поллютантов с
использованием гидропоники как модельной среды**

Научная специальность: 1.5.15. Экология (технические науки)

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Научный руководитель:
доктор технических наук
Макарова Анна Сергеевна

Москва – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. АНАЛИЗ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ И ОБОСНОВАНИЕ ГИДРОПОННОГО ПОДХОДА К ОЦЕНКЕ ФИТОТОЛЕРАНТНОСТИ	12
1.1. Анализ источников поллютантов в почвах, прилегающих к горнодобывающим и нефтегазовым предприятиям.....	12
1.1.1. Анализ техногенной нагрузки тяжёлыми металлами на почвенный покров (по материалам экологического мониторинга Министерства природных ресурсов и экологии РФ).....	12
1.1.2. Источники поступления анионных ПАВ и высокомолекулярных углеводородов в почвы нефтегазовых регионов	21
1.2. Механизмы фитотоксичности при комплексном загрязнении растений ТМ, высокомолекулярными углеводородами и анионными ПАВ	23
1.3. Механизмы адаптации растений к поллютантам	25
1.4. Нормативно-правовая база биологического этапа рекультивации земель и оценки фитотолерантности растений	28
1.4.1. Стандарты и методические документы, регламентирующие биологический этап рекультивации земель	28
1.4.2. Стандарты применения высших растений в качестве биоиндикаторов и значение пределов толерантности для их корректного использования	30
1.5. Сравнительный анализ подходов к оценке фитотолерантности: концепция дозозависимого отклика.....	32
1.5.1. Концепция дозозависимого отклика.....	32
1.6. Сравнительный анализ существующих методологий оценки фитотолерантности.....	37
1.7. Гидропоника, как модельная система для изучения фитотоксичности	39
1.8. Проблема корректности переноса результатов гидропонных экспериментов в полевые условия	41
1.9. Обоснование необходимости разработки нового методологического подхода и постановка задач исследования	43
1.10. Выводы по Главе 1	45
ГЛАВА 2. МЕТОДОЛОГИЯ ОЦЕНКИ ФИТОТОЛЕРАНТНОСТИ В ГИДРОПОНИКЕ КАК МОДЕЛЬНОЙ СРЕДЕ	47
2.1. Объекты исследования.....	47
2.1.1. Подбор тест-культур	47
2.1.2. Подбор поллютантов.....	48
2.1.3. Подбор гидропонной установки	50
2.1.4. Подбор питательного раствора	52

2.1.5. Обработка семян тест-культур	56
2.1.6. Прочие параметры	58
2.2. Методологические основы экспериментального подхода	59
2.3. Проведение экспериментов	61
2.3.1. Серия I. Оценка эффективности рабочего питательного раствора на хелатной основе	61
2.3.2. Серия II. Определение пределов фитотолерантности (LimP_H) к Hg^{2+} , анионным ПАВ и высокомолекулярным углеводородам	63
2.3.3. Серия III. Определение предела фитотолерантности к воздействию ТМ (Cd^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+})	65
2.3.4. Серия IV. Определение предела фитотолерантности к воздействию ТМ (Cd^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+}) в почве для расчета коэффициента пересчета «k»	66
2.3.5. Серия V. Исследование влияния хелатора ЭДТА на изменение предела фитотолерантности	68
2.4. Мониторинг и измерения	71
2.5. Аналитические методы исследования	73
2.6. Статистическая обработка	74
2.7. Выводы по Главе 2	76
ГЛАВА 3. АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ВЕГЕТАЦИОННЫХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ ПО ОЦЕНКЕ ФИТОТОЛЕРАНТНОСТИ	77
3.1. Результаты серии I	77
3.2. Результаты серии II	82
3.3. Результаты серии III	88
3.3.1. Результаты первого этапа серии III	88
3.3.2. Результаты второго этапа серии III	90
3.4. Серия IV. Определение предела толерантности в почвенной среде и расчет коэффициента пересчета «k»	93
3.5. Результаты серии V	96
3.6. Карта-справочник пороговых концентраций	103
3.7. Выводы по Главе 3	105
ГЛАВА 4. ПРАКТИЧЕСКАЯ РЕАЛИЗАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ	107
4.1. Программный комплекс «PhytoRemediator», его структура, алгоритм подбора	107
4.1.1. Назначение, архитектура и принципы построения программного комплекса «PhytoRemediator»	107
4.1.2. Алгоритм работы программного комплекса	111
4.1.3. Интерфейс программного комплекса	115

4.2. Апробация программного комплекса на производственном объекте – акт о внедрении от ПК «Модуль»	119
4.3. Экономический анализ эффективности предлагаемого методологического подхода	123
4.4. Методологические рекомендации по внедрению результатов	128
4.5. Выводы по Главе 4	130
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	132
СПИСОК ТЕРМИНОВ	135
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	143
ПРИЛОЖЕНИЯ	152
Приложение №1 – «Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2026615895».....	153
Приложение №2 – «Акт о внедрении результатов диссертационной работы»	154
Приложение №3	155
МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	155

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Почвы, прилегающие к горнодобывающим и нефтегазовым предприятиям Российской Федерации, испытывают интенсивную техногенную нагрузку. По данным государственного экологического мониторинга, проводимого Росгидрометом в 2023 г., в почвах, прилегающих к горнодобывающим предприятиям, зафиксированы систематические превышения предельно допустимых концентраций (ПДК) тяжелых металлов (ТМ) в 30 и более раз. Для нефтегазодобывающих регионов приоритетными поллютантами являются высокомолекулярные углеводороды и анионные ПАВ, используемые при бурении, заводнении пластов и подготовке нефти.

Установление пределов толерантности высших растений к поллютантам является важной экологической задачей. Количественные показатели фитотолерантности являются основой для организации биоиндикационного мониторинга загрязненных территорий. Высшие растения с известными пределами толерантности к поллютантам могут быть использованы в качестве биоиндикаторов на загрязненных территориях. Кроме того, фитотолерантность является инструментом для подбора растений на биологическом этапе рекультивации нарушенных территорий, когда для извлечения поллютантов из почвы и/или водоемов применяются растения-фиторемедианты.

Стоит также отметить, что тематика данного исследования тесно связана с задачами национального проекта «Экологическое благополучие» в части разработки и внедрения мероприятий по восстановлению нарушенных земель с применением биологической рекультивации на объектах, загрязненных ТМ и органическими поллютантами.

Классические подходы к определению фитотолерантности имеют серьезные ограничения:

- требуются длительные полевые испытания, длящиеся несколько вегетационных сезонов;

- погрешность при оценках накопления поллютантов растениями в пределах одного опытного участка может достигать 200 %;
- многофакторность почвенной среды (сорбционная емкость, обусловленная содержанием органического вещества, кислотностью и др.) не позволяет оценить реакцию растения в «чистом виде».

Таким образом, **актуальная научная проблема** заключается в разработке методологии, позволяющей оперативно и достоверно оценивать фитотолерантность растений. В качестве основного инструмента для решения данной проблемы в работе предложено использование гидропоники как модельной среды, позволяющей минимизировать погрешность при определении количественных пределов толерантности растений.

Степень разработанности темы. Существующие стандарты ГОСТ Р ИСО 22030 и ГОСТ Р ИСО 17616 устанавливают общие требования к биологическим методам оценки фитотоксичности, но не содержат конкретных количественных значений пределов фитотолерантности к поллютантам. Нормативно-техническая база регламентации рекультивации земель, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, включает также ГОСТ Р 57447-2017, устанавливающий требования о подборе травосмесей с учетом уровня загрязнения и условий произрастания, а также справочники ИТС 16-2023 (НДТ 5.9.5), ИТС 37-2023 (НДТ 37), определяющие перечень фитомелиоративных мероприятий для горнодобывающей промышленности, но не содержащие количественных критериев для обоснованного выбора растений. Справочник ИТС 53-2025 по ликвидации накопленного вреда на биологический этап не распространяется, что определяет востребованность настоящей методологии. Гидропонный скрининг с индексом толерантности (TI), аналогичным $LimP_H$, применялся фрагментарно в работах: Belimov A. et al. (2007 г.) по исследованию толерантности горчицы сарептской к Cd; Vanesa S. et al. (2013 г.) по исследованию устойчивости бобовых растений к Hg; Shufeng Wang et al. (2014 г.) по исследованию толерантности ивы цельнолистной к Pb, но без единой процедуры и сопоставления с почвой.

Вопросы фитотолерантности рассматривались также в работах д.т.н. Воробьева Н.И. (ВНИИСХМ), д.б.н. Башмакова Д.И. (МГУ им. Н.П. Огарева).

Объект исследования. Фитотолерантность высших растений к токсическому воздействию поллютантов.

Предмет исследования. Количественные показатели пределов фитотолерантности высших растений к поллютантам с использованием гидропоники как модельной среды.

Цель работы. Разработать и обосновать методологию оценки фитотолерантности с использованием гидропоники как модельной среды для установления пределов толерантности растений к поллютантам, свойственных почвам в зонах влияния горнодобывающих и нефтегазовых предприятий.

Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи**:

1. Анализ существующих подходов к оценке фитотолерантности. Обоснование преимуществ применения гидропоники как модельной среды для определения пределов фитотолерантности к поллютантам.
2. Разработка и тестирование методологии получения пределов фитотолерантности с использованием гидропоники как модельной среды.
3. Установление пределов фитотолерантности ($LimP_H$) высших растений к поллютантам (ТМ, анионные ПАВ, высокомолекулярные углеводороды) и коэффициентов пересчета между гидропонной и почвенной средами.
4. Исследование влияния ЭДТА на изменение фитотолерантности.
5. Разработка программного комплекса и практических рекомендаций по подбору высших растений для задач биоиндикационного мониторинга и биологического этапа рекультивации нарушенных земель.

Научная новизна

1. Обоснован методологический подход, основанный на использовании гидропоники как модельной среды, для установления пределов фитотолерантности к поллютантам.

2. Впервые получены численные значения пределов фитотолерантности ($LimP_H$) для восьми видов растений к шести типам поллютантов, свойственных почвам в зонах влияния горнодобывающих и нефтегазовых предприятий, позволяющие использовать их при разработке проектов биологической рекультивации нарушенных земель и организации экологического мониторинга загрязненных территорий.

3. Установлен коэффициент пересчёта « k », позволяющий переводить численные значения пределов фитотолерантности, полученные в гидропонной ($LimP_H$) среде, в численные значения пределов толерантности в почвенной среде ($Lim P_S$) с точностью около 75%.

4. Установлено положительное влияние хелатирующего агента ЭДТА на смещение предела фитотолерантности высших растений к ТМ.

Теоретическая и практическая значимость работы заключается:

- в обосновании использования гидропоники как модельной среды для оценки фитотолерантности;
- в установлении количественных закономерностей реакции растений на поллютанты, свойственные почвам в зонах влияния горнодобывающих и нефтегазовых предприятий (сформирована база данных пределов фитотолерантности для восьми видов растений по шести типам поллютантов);
- в дополнении научных основ прогнозирования состояния растительных сообществ, которые могут быть использованы при организации биоиндикационного мониторинга загрязненных территорий.
- разработке программного комплекса «*PhytoRemediator*» (свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ №2026615895), автоматизирующего подбор растений для 11 регионов РФ с учетом типа почвы, вида поллютанта в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 22030.

Прикладное значение работы подтверждается актом о внедрении разработанной методологии определения фитотолерантности с использованием гидропоники как модельной среды в деятельность производственного

кооператива «Модуль» для последующей разработки программ экологического мониторинга и проектов биологического этапа рекультивации нарушенных земель. Материалы диссертации использованы в просветительских лекциях «ПроАгро Лекторий» от ПАО «ФосАгро», а также при проведении летней практики для студентов кафедры ЮНЕСКО «Зеленая химия для устойчивого развития» в 2024-2026 учебных годах.

Материалы и методы исследования. Теоретической базой работы служат фундаментальные положения промышленной экологии, экотоксикологии растений и растениеводства. Методология основана на принципе дозозависимости и моделировании систем в лабораторных условиях. В качестве методической основы использованы стандартизированные подходы к культивированию растений в гидропонике как модельной среде (ГОСТ Р 70575) и оценка фитотоксического действия поллютантов (ГОСТ Р ИСО 22030). Содержание ТМ в биомассе определяли методом атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС). Статистическую обработку данных выполняли с использованием дисперсионного и регрессионного анализа.

Положения, выносимые на защиту:

1. Обоснование использования гидропонике как модельной среды, устраняющей влияние факторов почвенной среды и обеспечивающей более точное установление пределов фитотолерантности к воздействию поллютантов.
2. Впервые для восьми видов растений к шести типам поллютантов, характерных для почв в зонах влияния горнодобывающих и нефтегазовых предприятий, получены значения пределов фитотолерантности ($LimP_H$), и установлен коэффициент пересчета «k», позволяющий с точностью около 75% переносить лабораторные данные на почвенную среду.
3. Установлено положительное влияние хелатирующего агента ЭДТА (на 35-40%), смещающее предел фитотолерантности высших растений к ТМ.
4. Разработан программный комплекс «*PhytoRemediator*», обеспечивающий автоматизированный подбор видов растений для конкретных условий загрязнения

с учетом типа почвы и природно-климатического региона в 11 субъектах РФ и формирующий инструмент системного экологического мониторинга и планирования биологической рекультивации нарушенных земель.

Степень достоверности результатов. Достоверность подтверждена результатами лабораторных исследований на сертифицированном оборудовании с трехкратной повторностью экспериментов; разброс значений между повторами не превышал 23%. Полученные данные согласуются с литературными данными.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы доложены на 20 научных мероприятиях (2021–2026 гг.), включая: IV Международную научно-практическую конференцию «Устойчивое развитие в сельском хозяйстве и экологическая безопасность» (EESTE-IV-2024) (Республика Таджикистан, г. Душанбе, 2024 г.); VI Всероссийскую научно-практическую конференцию «Технологии переработки отходов с получением новой продукции» (г. Киров, 2024 г.); Международный молодежный форум «Россия – Африка: ядерное образование как потенциал для успешного развития региона» (г. Москва, 2025 г.); II Международную научно-исследовательскую конференцию «Научный синтез: пересечение идей и технологий» (г. Москва, 2025 г.); Международный конкурс экопроектов «Экология без границ» (г. Орел, 2025 г.); XVIII Международную научно-практическую конференцию, посвященную 100-летию издания очерков В. И. Вернадского «Биосфера» (г. Москва, 2026 г.); Международный молодежный форум «Россия – Африка: ядерное образование как потенциал для успешного развития региона» (г. Москва, 2026 г.) и др.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 14 печатных работ, в том числе 3 статьи в журналах, индексируемых в международных базах данных Scopus; 1 статья в журнале, индексируемом в международной базе научного цитирования GeoRef; 1 статья в журнале, рекомендованном Высшей аттестационной комиссией (ВАК) при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации.

Личный вклад автора. Автором выполнен анализ научной литературы, разработана методология, проведены все экспериментальные исследования, выполнена обработка и интерпретация данных, подготовлены публикации, текст диссертации и разработан программный комплекс «*PhytoRemediator*».

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, списка литературы и приложений. Основное содержание изложено на 168 страницах и включает 98 рисунков и 29 таблиц. Список литературы – 115 источников (35 на иностранных языках).

Соответствие паспорту специальности. Решаемая в работе научно-техническая проблема соответствует научной специальности 1.5.15. Экология (технические науки) и отвечает требованиям паспорта специальности:

- п. 1 «Исследование влияния абиотических факторов технологических процессов и продукции нефтегазовой отрасли на живые организмы в природных и лабораторных условиях с целью установления пределов толерантности организмов к техногенному воздействию»;
- п. 2 «Комплексная оценка влияния промышленных объектов горнодобывающей промышленности на природные и искусственные экосистемы. Принципы и механизмы системного экологического мониторинга».

Благодарности

Автор выражает искреннюю признательность коллективу кафедры ЮНЕСКО «Зелёная химия для устойчивого развития» за всестороннее содействие на всех этапах подготовки диссертационной работы. Особую благодарность автор приносит ассистентам К.В. Пищевой и С.А. Мурадян, а также заведующему кафедрой ЮНЕСКО «Зелёная химия для устойчивого развития», члену-корреспонденту РАН, доктору химических наук, профессору Наталии Павловне Тарасовой. Глубокую признательность автор выражает своему научному руководителю - доктору технических наук, профессору А.С. Макаровой за неизменную поддержку, ценные научные консультации и помощь в проведении исследования.

ГЛАВА 1. АНАЛИЗ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ И ОБОСНОВАНИЕ ГИДРОПОННОГО ПОДХОДА К ОЦЕНКЕ ФИТОТОЛЕРАНТНОСТИ

1.1. Анализ источников поллютантов в почвах, прилегающих к горнодобывающим и нефтегазовым предприятиям

Нефтегазовая и горнодобывающая промышленности формируют основные потоки техногенного загрязнения почвенной среды на территории Российской Федерации [1]. Повсеместно на промышленных территориях, в зависимости от типа производства, формируются обширные ареалы загрязнения тяжелыми металлами (ТМ), нефтепроизводными высокомолекулярными углеводородами и ПАВ, концентрации которых нередко многократно превышают предельно допустимые концентрации (ПДК) [2]. Для очистки загрязнённых почв применяются химические, физико-химические и биологические методы, одним из которых является фиторемедиация – использование растений для извлечения или иммобилизации поллютантов. Однако при выборе фиторемедиации необходимо учитывать необходимость последующей утилизации растительной биомассы, накопившей токсичные элементы, что накладывает дополнительные требования к организации природоохранных мероприятий. Понимание природы воздействия данных загрязнителей, механизмов их поступления в почву и географии распространения является необходимой основой для научно обоснованного выбора методов биологической рекультивации с учетом всех этапов обращения с отходами.

1.1.1. Анализ техногенной нагрузки тяжёлыми металлами на почвенный покров (по материалам экологического мониторинга Министерства природных ресурсов и экологии РФ)

Горнодобывающая промышленность остается одним из основных источников поступления ТМ в почву. На рисунке 1.1 представлена схема карты РФ, на которой отмечены зоны с повышенным содержанием ТМ в почве [6].



Рисунок 1.1 – Загрязнение почв РФ ТМ

В результате добычи и первичной переработки руд в окружающую среду (атмосфера, почва, водоемы) поступают соединения ТМ Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} и Zn^{2+} [3]. Различают следующие пути загрязнения:

1. Атмосферные выбросы металлургических предприятий с последующим сухим и влажным осаждением;
2. Фильтрация кислых дренажных вод из хвостохранилищ и горных отвалов;
3. Механическое рассеивание рудной пыли при транспортировке и складировании сырья.

Техногенные источники поступления ТМ превосходят природный геохимический фон в среднем в 100 и более раз, что является негативным воздействием на окружающую среду. Например, поступление кадмия (Cd) в почву связано с тем, что он является сопутствующим элементом при добыче и выплавке Zn , Cu и Pb . Он характеризуется интенсивным накоплением в биомассе растений, так как обладает высокой биодоступностью при низких значениях pH почвенного раствора и слабо сорбируется на минеральных частицах [4]. Медь (Cu) и никель (Ni) – характерные компоненты выбросов предприятий цветной металлургии: оба металла нарушают синтез хлорофилла и угнетают

фотосинтетическую активность [5]. Свинец (Pb) прочно удерживается на почвенных коллоидах и накапливается преимущественно в корневой зоне. Цинк (Zn) среди всех является незаменимым микроэлементом. Но при избыточном содержании в растениях вызывается окислительный стресс, который оказывает нарушение ионного гомеостаза.

Государственный экологический мониторинг Министерства природных ресурсов и экологии РФ (2023) [7] показал систематическое превышение ПДК ТМ в почвах, которые были зафиксированы в более чем пяти крупнейших промышленных кластерах страны [8]:

- Норильский кластер (Красноярский край), где находится крупнейшее в мире медно-никелевое производство. Содержание ионов Ni^{2+} превышает ПДК в 25-50 раз, Cu^{2+} – в 30-70 раз, Cd^{2+} – в 10-20 раз. Площадь загрязненной поллютантами территории составляет более 350 тыс. Га.

- Челябинский кластер – в нем находится зона цветной и черной металлургии. Превышение ПДК по Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Cu составляет более 10-30 раз и ареалы загрязнения распространены до 20–30 км от источников выбросов.

- Свердловский кластер. Старейший горнодобывающий регион России, превышение ПДК по Cu^{2+} и Ni^{2+} в котором превосходит в 15-40 раз, по Cd^{2+} – 20-35 раз вблизи медеплавильных и никелевых предприятий.

- Иркутский кластер, в котором находится алюминиевая промышленность, добыча золота и полиметаллов. В нем наблюдаются превышения ПДК по Pb^{2+} и Zn^{2+} в 10–20 раз, по Cd^{2+} - до 15 раз.

- Липецкий кластер – предприятия черной металлургии. Превышение ПДК по Pb^{2+} – 5-15 раз, по Zn^{2+} – 8-20 раз на прилегающих территориях.

Ниже представлены Таблица 1.1, в которой расположены массовые доли металлов, мг/кг, в почвах фоновых участков на территориях различных федеральных округов РФ за 2023 год исходя из данных Государственного экологического мониторинга Министерства природных ресурсов и экологии РФ (2023) [7]. В ней представлены места наблюдений в регионах РФ с загрязнениями

по таким ТМ, как Pb^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} . Также указан преобладающий тип почвы, на которой проводился мониторинг.

Таблица 1.1 – Массовые доли металлов, мг/кг, в почвах фоновых участков на территориях различных федеральных округов РФ, обследованных в 2023 г. [7].

Место наблюдений	Преобладающий тип почв	Форма нахождения	Pb	Mn	Ni	Zn	Cu	Co	Cd
Дальневосточный федеральный округ									
Приморский край 50 км ЮЗ от г. Дальнегорска	Бурая лесная среднесуглинистая	в	26,7	227	7,5	176	24,9	н/о	0,59
		п	4,2	24,8	<0,3	17,5	1,3	н/о	0,11
		вод	<1	<0,1	<0,3	0,06	<0,2	н/о	<0,05
Сибирский федеральный округ									
Иркутская область г. Слюдянка–п. Култук	Дерново-луговые, серые лесные	к	3,83	274	1,65	28,6	11,5	5,26	0,02
	Серая лесная, песчаная		3,28	369	0,4	94,6	3,15	1,99	0,07
Западная Сибирь г. Новосибирск 3 38 км с. Прокудское	Подзолисты, суглинок	к	7,08	712	31,4	119	26,0	12,0	0,52
г. Кемерово, д. Калинкино, ЮЮЗ 55 км от ГРЭС	Выщелоченный чернозем, суглинок	к	16,2	н/о	н/о	57,8	20,1	н/о	0,44
г. Томск, с. Ярское, Ю 35 км от ГРЭС-2	Подзолистые, суглинок	к	12,3	613	25,0	63,5	17,1	9,0	0,34
Уральский федеральный округ									
Свердловская область Ср за 1989 – 2023 гг.		к	26,8	933	36	93	71	20	1,02
п. Мариинск 54 км ЮЗ от г.Екатеринбурга 2023 г		п	9,6	278	2,8	31	10	1,3	0,6
Приволжский федеральный округ									
Нижегородская область г. Арзамас 20 км от г.	Дерново-подзолистые	к	<5,0	172	18,0	32,0	13,0	8,0	0,5

Продолжение Таблицы 1.1.

г. Нижний Новгород Заречная часть	Дерново-подзолистые	к	16,0	80,0	14,0	55,0	7,0	7,0	0,5
Кировская область г. Киров (27-51 км от г.)	Дерново-подзолистые	к	5,0	157	16,0	21,0	9,0	6,0	0,5
Самарская область г. Тольятти	Песчаные	к	19,0	330	33,0	70,0	20,0	н/о	0,7
НПП «Самарская Лука» , 3 100 км от г. Самары	Черноземы	к	5,9	347	25,2	61,1	62,9	н/о	1,5
Республика Татарстан 20 км от г. Казани, Раифский государственный заповедник	Дерново-подзолистые суглинистые	к	6,6	392	7,8	23,4	5,0	н/о	0,26
г. Нижнекамск , г. Набережные Челны, Национальный парк «Нижняя Кама»		к	9,3	378	26,5	38,8	13,3	н/о	0,54

Проведён анализ территориального распределения загрязнения почв тяжёлыми металлами с выделением категорий опасности по суммарному показателю загрязнения Z_f . В таблице 1.2 представлен перечень населённых пунктов, отнесённых к умеренно опасной ($16 \leq Z_f < 32$) и опасной ($32 \leq Z_f < 128$) категориям загрязнения. Для каждого пункта указаны приоритетные техногенные металлы, формирующие локальные геохимические аномалии, а также зона обследования относительно источника выбросов.

Из анализа таблицы следует, что наиболее сложная ситуация характерна для городов Свердловской области (Кировград, Ревда, Реж) и Красноярского края (Норильск), где суммарный показатель загрязнения достигает значений 46–123, что соответствует опасной категории. Для этих территорий доминирующими поллютантами являются Cu, Ni, Pb, Cd и Zn – металлы, типичные для выбросов предприятий цветной металлургии. В городах Иркутской области (Свирск, Черемхово) и Республики Башкортостан (Агидель, Нефтекамск) также фиксируются превышения ПДК по Cd, Pb и Cu, что связано с деятельностью горнодобывающих и нефтеперерабатывающих производств.

Полученные данные наглядно коррелируют с картосхемой загрязнения почв РФ (Рисунок 1.1), на которой отмечены основные промышленные кластеры с многократным превышением ПДК ТМ. Таким образом, таблица 1.2 не только дополняет картографический материал количественными значениями, но и подтверждает, что приоритетными объектами для биологической рекультивации являются территории с комплексным полиметаллическим загрязнением, где применение фиторемедиации потенциально наиболее востребовано.

Таблица 1.2 – Перечень населенных пунктов РФ с умеренно опасной и опасной категорией загрязнения почв металлами (по данным наблюдений с 2014 по 2023 гг.) [7].

Республика, край, область, населенный пункт	Год наблюдений	Зона обследования радиусом, км, вокруг источника	Приоритетные техногенные металлы
Опасная категория загрязнения почв $32 \leq Z_f < 128$			
Иркутская область г. Свирск	2016	УМН-1, 0,5	Свинец, медь, кадмий
	2020		
Свердловская область г. Кировград		От 0 до 5	Свинец, медь, цинк, кадмий
г. Ревда	2014	ПМН	Медь, свинец, кадмий, цинк
	2022	ПМН	Медь, свинец, кадмий, цинк
г. Реж	2018	От 0 до 5	Никель, кадмий, медь
	2023		
Красноярский край г. Норильск	2018	Территория города	Медь, никель, кобальт
Нижегородская область г. Дзержинск	2021	Земли спецназначения	Ртуть, свинец, медь
Новосибирская область г. Новосибирск	2021	Кировский район	Олово, кадмий
	2022	От 0 до 1 км от ООО «НОК»	Олово, цинк, кадмий
Республика Башкортостан г. Нефтекамск	2022	От 0 до 1 км от ПАО «НЕФАЗ»	Никель, свинец, цинк
Умеренно опасная категория загрязнения, $16 \leq Z_f < 32$			
Иркутская область г. Свирск	2014	Территория города	Свинец, медь, кобальт, кадмий
	2022	УМН №1	Свинец, кобальт
г. Слюдянка	2023	Территория города	Медь, цинк, свинец

Продолжение Таблицы 1.2

Кировская область г. Кирово-Чепецк	2018	От 0,5 до 5,5	Свинец, кадмий
	2019		
Нижегородская область г. Нижний Новгород	2014	Заречная часть	Цинк, медь, железо
Новосибирская область г. Новосибирск	2019	Территория города	Свинец, олово
	2022	Территория города	Свинец, олово
	2023	Территория города	Свинец, кадмий
Оренбургская область г. Орск	2016	Территория города	Медь, свинец, кадмий
г. Медногорск	2019	Территория города	Кадмий, медь, свинец, цинк
Приморский край г. Дальнегорск	2016	От 0 до 20 от города	Свинец, кадмий, цинк
	2023	Территория города	Свинец, кадмий, цинк
с. Рудная Пристань	2016	От 0 до 1 от села	Свинец, кадмий, цинк
	2023	От 0 до 1 от села	Свинец, кадмий, цинк

Таблица 1.3 содержит детализированную информацию по каждому из приоритетных загрязнителей. Там указаны конкретные значения массовых долей металлов (в мг/кг) в почве, радиус зоны обследования относительно источника загрязнения, а также год проведения наблюдений. Такой подход позволяет не только идентифицировать территории с наибольшей техногенной нагрузкой, но и проследить временную динамику накопления отдельных элементов.

Анализ таблицы показывает, что для кадмия превышения ПДК (1,3–12,0 мг/кг) зафиксированы в городах Свердловской области (Первоуральск, Ревда, Кировград, Реж), где максимальные значения достигают 77,5 мг/кг, что связано с деятельностью предприятий цветной металлургии. По меди наибольшие концентрации отмечены в Томске (221–607 мг/кг), Ревде (412–1915 мг/кг) и Свирске (141–281 мг/кг). Для никеля критические значения выявлены в Норильске и Реже, что согласуется с данными Таблицы 1.2 и картосхемой загрязнения (Рисунок 1.1).

Важно подчеркнуть, что Таблица 1.3 содержит как валовые, так и кислоторастворимые формы металлов, что позволяет оценить не только общее загрязнение, но и потенциальную биодоступность поллютантов для растений.

Таблица 1.3 – Перечень населенных пунктов, обследованных в 2016 – 2020 гг., в почвах территорий которых средние значения массовых долей валовых и/или кислоторастворимых форм ТМ равны или превышают 1 ПДК, 1 ОДК (максимальную) или 3Ф (в зависимости от имеющегося критерия) [9].

Металл, город	Год наблюдений	Зона радиусом или расстояние от источника, км (наименование источника)	Массовая доля, мг/кг	
			средняя	Макси- мальная
Кадмий				
Первоуральск	2019	0–10 км от ОАО «ПНТЗ	1,3	5,2
Ревда	2019	0–10 км от ОАО «СУМЗ»	4,2	12
Томск	2019	ПМН	2,1	4,8
Медногорск	2019	ТГ	1,4	2,7
Дзержинск	2019	ТГ	1,5	2,7
Баймак	2020	0–4 км от АО «БЛМЗ»	1,2	6,0
Свирск	2021	ТГ	5,0	8,1
Черемхово	2021	ТГ	3,3	7,0
Агидель	2022	0–1 км от ООО «ЗСМ»	1,5	7,6
Каменск- Уральский	2022	0–1 км от АО «РУСАЛ УРАЛ»	1,7	7,9
Ревда	2022	УМН	7,6	21,0
Октябрьский	2023	0–1 км от АО «АК Октябрьский за- вод нефтеавтоматики»	4,3	35,0
Кировград	2023	0–10 км от АО «Уралэлектромедь»	5,1	18,2
Реж	2023	0–10 км от ЗАО «ПО «Режникель»	12,0	77,5
Марганец				
Дальнегорск	2023	ТГ	1669	2740
Полевской	2023	0–1 км от АО «СТЗ»	2548	8360
Медь				
Томск	2019	ПМН	221	607
Медногорск	2019	ТГ	200	326
Первоуральск	2019	0–10 км от ОАО «ПНТЗ»	245	880
Ревда	2019	0–10 км от ОАО «СУМЗ»	412	1915
Свирск	2020	УМН №1 Ю 0,5 км	141	281
Баймак	2020	0–1 км от АО «БЛМЗ»	258	959
Сибай	2020	0–5 км от СФ АО «УГОК»	197	881
Учалы	2021	0–1 км от АО «УГОК»	160	355
Нижний Тагил	2021	0–1 км от объединенного источника	185	387

Основными источниками полиметаллического загрязнения служат предприятия чёрной и цветной металлургии, причём для цветной металлургии типичны пиковые выбросы, для чёрной – устойчивое фоновое загрязнение (Рисунок 1.2).

За тридцатилетний период (1994–2023) доля территорий с опасным уровнем загрязнения составила 3,3 %, с умеренно опасным – 10,5 %, допустимым

– 86,2 %. При этом внутри относительно благополучных районов нередко встречаются локальные участки с высокими концентрациями ТМ. Динамика 2015–2023 гг. демонстрирует снижение концентраций Ni (в 5,3 раза) и Zn (в 2,5) при одновременном росте Cu (в 1,3) и Hg (в 3,9 раза); в пригородных зонах снижение сильнее, чем в городских. Это связано с различиями в структуре источников.

Таким образом, несмотря на общее преобладание допустимого уровня загрязнения, локальное накопление Cu и Hg остаётся актуальной проблемой, тогда как положительная динамика по Ni, Pb и Zn свидетельствует об эффективности принятых природоохранных мер [7]. Выявленные очаги полиметаллического загрязнения и перечни приоритетных металлов послужили основой для выбора модельных поллютантов и тест-культур в экспериментальной части работы, где растения рассматриваются как биоиндикаторы для оценки пределов толерантности; полученные данные могут быть использованы при планировании рекультивационных мероприятий, но не заменяют разработки технологий утилизации загрязнённой биомассы.

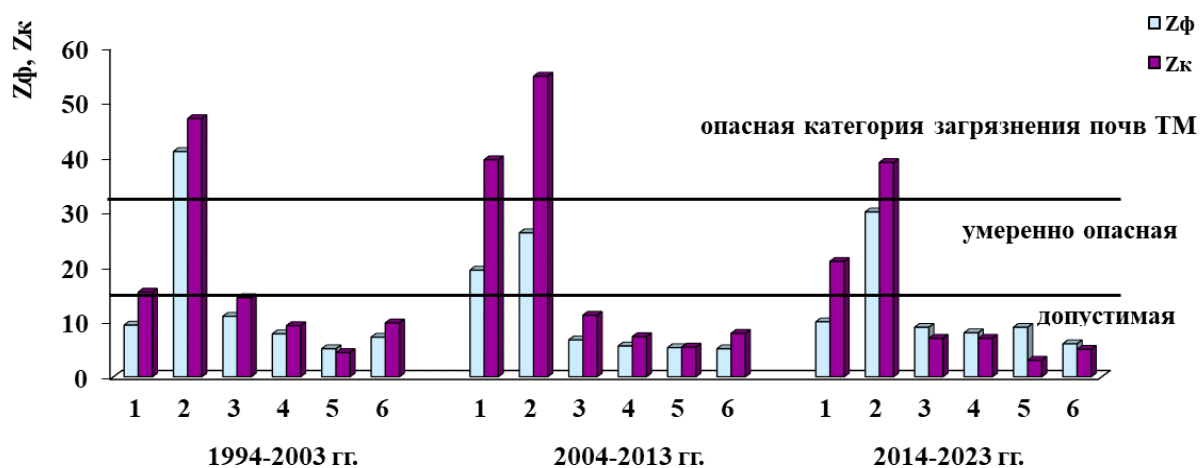


Рисунок 1.2 – Динамика средних по отраслям промышленности усредненных за 1994 – 2023 гг. показателей загрязнения почв комплексом ТМ Z_f и Z_k вокруг предприятий черной металлургии (1), цветной металлургии (2), машиностроения и металлообработки (3), топливной и энергетической промышленности (4), химической и нефтехимической промышленности (5), строительной промышленности и производства стройматериалов (6) [7].

1.1.2. Источники поступления анионных ПАВ и высокомолекулярных углеводов в почвы нефтегазовых регионов

В нефтегазовых регионах основными источниками поступления анионных ПАВ и высокомолекулярных углеводов являются технологические процессы добычи, подготовки и транспортировки углеводородного сырья [74].

Анионные ПАВ поступают в почву преимущественно в составе буровых растворов, промывочных жидкостей и реагентов, используемых при бурении скважин и интенсификации добычи [10]. К числу анионных ПАВ, применяемых в нефтяной промышленности, относятся алкилбензолсульфонаты (в том числе сульфонол), алкилсульфонаты, сульфаты спиртов, а также алкиларилсульфонаты. Эти соединения используются в качестве эмульгаторов, компонентов буровых растворов, деэмульгаторов для обезвоживания и обессоливания нефтяных эмульсий, а также в составах для увеличения нефтеотдачи пластов. Помимо целенаправленного применения, ПАВ попадают в окружающую среду с производственными сточными водами нефтеперерабатывающих заводов (содержание нефтепродуктов в таких водах может достигать 100–5000 мг/л) и при аварийных разливах технологических жидкостей. Попадая в почву, ПАВ изменяют поверхностное натяжение воды в поровом пространстве, тем самым нарушая структуру почвенных агрегатов, что повышает проницаемость клеточных мембран растений. Фитотоксическое действие ПАВ проявляется в разрушении липидного бислоя мембран, подавлении дыхания и угнетении ростовых процессов [11].

Высокомолекулярные углеводороды поступают в почву при разливах сырой нефти, утечках из трубопроводов, а также с фильтратами буровых растворов и сточными водами. Нефть представляет собой сложную смесь углеводородов различных классов: алифатических (нормальные и изопреноидные алканы, в том числе высокомолекулярные гомологи C₂₇–C₃₉), циклических насыщенных (нафтеновые), ароматических (включая полициклические ароматические углеводороды – ПАУ), а также смешанных (метаново-нафтеновых и нафтеново-ароматических) структур [12]. В

поверхностных горизонтах загрязнённых почв нередко доминируют именно высокомолекулярные гомологи с длинными углеводородными цепями. Процесс трансформации нефтяного загрязнения в природных условиях протекает по схеме: алифатические углеводороды → циклические нафтеново-ароматические углеводороды → смолы с преимущественно ароматической структурой.

Таким образом, загрязнение почв в нефтегазовых регионах носит комплексный характер. Наряду с углеводородной составляющей (включающей высокомолекулярные алифатические, циклические и ароматические соединения) существенную роль играют анионные ПАВ (прежде всего алкилбензолсульфонаты), поступают в составе буровых реагентов и технологических жидкостей на всех этапах нефтедобычи и подготовки нефти.

Многие нефтепроизводные соединения могут образовывать гидрофобные пленки на поверхности почвенных частиц, что блокирует доступ воды и кислорода к корням. Это в последствии угнетает деятельность почвенных микроорганизмов-деструкторов и ведет к гибели растений [13].

По данным того же мониторинга [7], масштабное загрязнение почв нефтепроизводными зафиксировано на территории Тюменской области, включая Ханты-Мансийский и Ямало-Ненецкий автономные округа, – крупнейших нефтегазодобывающих регионов России. Содержание нефтепродуктов в почвах вблизи скважин и трубопроводов регулярно превышает ПДК (1000 мг/кг) в 10-30 раз. Ежегодно в Западной Сибири фиксируются тысячи порывов трубопроводов, каждый из которых приводит к загрязнению почвы объемом от нескольких десятков до тысяч тонн нефти, вызывая деградацию почвенной биоты и снижение видового разнообразия растительного покрова.

За последние два-три года были зафиксированы разливы нефтепродуктов в акватории Черного моря, которые мигрировали в почвенный слой близлежащей береговой зоны и перенесены птицами. Для таких случаев гидропоника является идеальной средой для проведения различных опытов и экспериментов для определения наиболее толерантных растений в перспективе использования для очистки загрязненных территорий [14].

1.2. Механизмы фитотоксичности при комплексном загрязнении растений ТМ, высокомолекулярными углеводородами и анионными ПАВ

Загрязнение почв тяжёлыми металлами, нефтепродуктами и поверхностно-активными веществами оказывает на растения многообразное токсическое действие. В малых концентрациях некоторые ТМ выступают в роли эссенциальных микроэлементов [15], участвуя в ключевых биохимических процессах. Однако при превышении пороговых значений для всех типов поллютантов характерны общие эффекты: нарушение проницаемости и тургора клеточных мембран, индукция окислительного стресса и подавление активности ферментов [16]. Вместе с тем каждая группа соединений имеет специфические механизмы токсичности, понимание которых необходимо для количественной оценки фитотолерантности.

Ионы ТМ поступают в растение главным образом через корень, используя апопластный и симпластный пути транспорта [17], и конкурируют с эссенциальными катионами (Ca^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+}) за связывание с транспортными белками, что нарушает ионный гомеостаз клетки [17, 18]. Кроме того, ТМ способны связываться с функциональными группами белков клеточной стенки, препятствуя её растяжению и снижая эластичность [19], что негативно сказывается на структурной целостности корня и его способности поглощать воду и питательные вещества.

Одним из ключевых универсальных механизмов фитотоксичности ТМ является индукция окислительного стресса, обусловленная генерацией активных форм кислорода (АФК) – супероксид-радикала ($\text{O}_2^{\bullet-}$), перекиси водорода (H_2O_2) и гидроксильного радикала ($\text{HO}^{\bullet}$) по реакции Фентона [20, 21]. Избыточное накопление АФК инициирует перекисное окисление липидов мембран, окислительную модификацию белков и повреждение ДНК [22]. Особую роль в реализации этого процесса играет кадмий: хотя Cd^{2+} сам по себе не обладает редокс-активностью, он подавляет активность ключевых ферментов антиоксидантной защиты – каталазы, супероксиддисмутазы и

глутатионредуктазы, что приводит к опосредованному усилению окислительного стресса [23].

Специфика токсического действия различных ТМ определяется их химическими свойствами. Так, Cd^{2+} и Pb^{2+} замещают Ca^{2+} в кальций-зависимых ферментах и ингибируют клеточное деление, что проявляется в угнетении роста корня уже при концентрациях 5–10 мг/л в питательном растворе [24]. Избыток Cu^{2+} непосредственно повреждает мембраны хлоропластов и нарушает пигментный состав, тогда как Ni^{2+} подавляет активность никель-зависимых ферментов [25]. В свою очередь, Zn^{2+} при высоких концентрациях конкурирует с Fe^{2+} за связывание в порфириновых комплексах, что приводит к нарушению синтеза хлорофилла и снижению фотосинтетической активности [26].

В условиях гидропонной модельной среды, где отсутствуют почвенные факторы сорбции и комплексообразования, перечисленные механизмы реализуются наиболее полно, что позволяет количественно оценивать фитотоксический эффект через показатели роста, биомассы, а также определять пределы толерантности растений (LimP_H) к каждому из изучаемых ТМ.

Фитотоксическое действие ПАВ обусловлено их амфифильностью, так как молекулы ПАВ способны встраиваться в липидный бислой плазмалеммы клеток корня, нарушая его структурную организацию. При превышении критической мицеллярной концентрации развивается солубилизация мембранных липидов, что ведёт к неконтролируемому ионному обмену между клеткой и внешней средой и, в конечном счёте, к гибели растительного организма [27]. Действие ПАВ носит острый характер. В наших экспериментах концентрация 2 мл/л вызывала гибель наиболее чувствительного вида (базилика) уже на 5–7-е сутки. Кроме того, ПАВ способны изменять биодоступность других поллютантов, десорбируя ионы металлов с почвенных коллоидов, что усиливает суммарное токсическое действие [28].

Нефтепроизводные соединения воздействуют на растения как путём прямого контакта с корневыми тканями, так и опосредованно – через изменение физических свойств среды [29]. Алифатические углеводороды с длиной цепи

C9–C15 образуют гидрофобные плёнки на поверхности почвенных частиц, блокируя поступление воды и кислорода к корням и вызывая гипоксию [30]. На клеточном уровне липофильные фракции нефтепроизводных нарушают конформацию белков-транспортёров и снижают активность H^+ -АТФазы плазмалеммы [31]. В нашем эксперименте малые концентрации (0,5–1 мл/л) углеводородов стимулировали ростовые показатели, тогда как высокие (>4 мл/л) приводили к устойчивому угнетению, что объясняется временным повышением проницаемости мембран для ионов питательных элементов [32].

Общим для трёх рассматриваемых групп поллютантов является нарушение функций клеточных мембран, однако механизмы этого нарушения и динамика токсического эффекта различны. Именно эти различия обосновывают использование гидропоники в качестве модельной среды. В жидком питательном растворе поллютанты всех трёх классов распределены гомогенно, их концентрация точно контролируется, а почвенные эффекты – сорбция, изменение pH и вторичные взаимодействия – исключены, что позволяет изолировать физиологический ответ растения и количественно охарактеризовать его через показатель $LimP_H$. На ценотическом уровне загрязнение избирательно подавляет чувствительные виды, упрощая структуру сообществ и способствуя доминированию толерантных видов, что лежит в основе концепции фиторемедиации [33].

1.3. Механизмы адаптации растений к поллютантам

Растения в процессе эволюции выработали многообразные стратегии адаптации к неблагоприятным химическим условиям среды, которые определяют *фитотолерантность* – способность обеспечивать выживание, рост и размножение в условиях токсического стресса. Способность ряда видов не только выживать в загрязнённой среде, но и аккумулировать поллютанты в биомассе стала основой для технологий фиторемедиации – биологического метода очистки загрязнённых почв [34]. Среди высших растений выделяют две принципиальные стратегии по отношению к ТМ: исключение и накопление [35].

Стратегия исключения направлена на предотвращение поступления ТМ во внутреннюю среду растения и реализуется через выделение органических кислот (лимонной, яблочной), связывающих ионы ТМ в нерастворимые комплексы вне корня, изменение pH ризосферы, а также ограничение экспрессии транспортных белков. Стратегия накопления, напротив, предполагает активное поглощение ТМ, его транспорт в надземные органы и последующую детоксикацию внутри клетки за счёт синтеза металлотионеинов и фитохелатинов, которые образуют стабильные комплексы с ионами ТМ и транспортируют их в вакуоль [36, 37, 38].

ПАВ могут повреждать клеточные мембраны растений. Чтобы защититься, растения меняют состав этих мембран: увеличивают содержание стерина и насыщенных жирных кислот. Это делает мембраны более плотными и менее уязвимыми для разрушающего действия ПАВ. Кроме того, часть молекул ПАВ задерживается в пространстве между клетками, не проникая внутрь [39].

Для защиты от углеводородов нефтяного происхождения растения используют трёхступенчатую систему обезвреживания. Сначала специальные ферменты (*цитохромы P450*) окисляют углеводороды, превращая их в более полярные соединения. Затем эти соединения связываются с глутатионом или глюкозой. И, наконец, образовавшиеся комплексы накапливаются в вакуолях клеток или в клеточных стенках, где они уже не опасны. Также корни растений выделяют в почву вещества, которые стимулируют рост бактерий и грибов, способных разрушать нефтепродукты. Этот процесс называется ризодеградацией, и он позволяет растению снижать токсическую нагрузку с помощью микроорганизмов [40].

Различают пять основных стратегий фиторемедиации:

- *Фитоэкстракция* – поглощение ТМ корнями с накоплением в надземной биомассе и последующей уборкой [41];
- *Фитостабилизация* – иммобилизация поллютантов в корневой зоне без удаления из почвы;

- *Ризофильтрация* – поглощение и адсорбция поллютантов корнями в водной среде, что непосредственно соответствует условиям гидропонных экспериментов;
- *Фитодеградация* – ферментативная биотрансформация органических поллютантов внутри клеток;
- *Ризодеградация* – стимуляция микробной деградации органики через корневые экссудаты.

Эффективность фитоэкстракции количественно описывается двумя показателями:

- *Коэффициент биоаккумуляции* (КБА) – способность вида накапливать ТМ в надземных органах, рассчитывается по формуле 1.1:

$$КБА = \frac{C(\text{биомасса})}{C(\text{субстрат})} \quad (1.1)$$

- *Коэффициент транслокации* (КТ) – характеризует перемещение ТМ из корня в побег, рассчитывается по формуле 1.2 [44]:

$$КТ = \frac{C(\text{побег})}{C(\text{корень})} \quad (1.2)$$

При КБА > 1 растение считается биоаккумулятором; при КТ > 1 металл активно транспортируется в надземные органы (стратегия фитоэкстракции), а при КТ < 1 – удерживается в корнях (фитостабилизация).

Наиболее эффективными для фитоэкстракции являются виды с одновременно высокими значениями обоих коэффициентов [42, 43].

Гидропонная среда позволяет определять эти коэффициенты в контролируемых условиях, что является преимуществом настоящего подхода.

В ранних работах автора предложены методы фиторемедиации для очистки территории Усоля-Сибирского, которые получили положительную оценку специалистов [45]; в частности, показано, что результаты могут служить фоновыми значениями при мониторинге содержания Hg^{2+} и позволяют прогнозировать её изменение при смене растительного покрова [46].

Одной из противоречащих аргументов против использования фиторемедиации считается проблема утилизации растений-фиторемедиантов

после очистки загрязненных территорий. Основными способами утилизации растений-фиторемедиантов является компостирование и сжигание. Однако, данные методы недостаточно эффективны и требуют доработок в применении.

1.4. Нормативно-правовая база биологического этапа рекультивации земель и оценки фитотолерантности растений

Определение количественных пределов толерантности растений к поллютантам не является самоцелью. Оно востребовано в двух практических контекстах, каждый из которых регламентируется отдельным блоком нормативных документов:

1. Организация биологического этапа рекультивации нарушенных земель;
2. Применение высших растений в качестве биоиндикаторов при экологическом мониторинге.

Рассмотрим оба контекста последовательно, поскольку именно они определяют требования к точности и форме представления данных о фитотолерантности, получаемых в настоящей работе.

1.4.1. Стандарты и методические документы, регламентирующие биологический этап рекультивации земель

Рекультивация нарушенных земель в Российской Федерации регулируется Постановлением Правительства РФ от 10.07.2018 № 800 «*О проведении рекультивации и консервации земель*», устанавливающим два обязательных этапа работ: технический (планировка поверхности, формирование плодородного слоя, инженерная подготовка) и биологический (восстановление растительного покрова, включая посев трав, посадку древесно-кустарниковой растительности, применение агротехнических и агрохимических мероприятий). Методические требования к содержанию и порядку выполнения биологического этапа конкретизированы в ГОСТ Р 59060-2020 «*Охрана окружающей среды. Земли. Рекультивация и консервация земель. Общие требования*» и ГОСТ 17.5.3.04-83 «*Охрана природы. Земли. Общие требования к рекультивации*

земель», которые определяют необходимость подбора видов растений с учётом их устойчивости к содержанию поллютантов в рекультивируемом слое.

Ключевая методологическая проблема заключается в том, что перечисленные нормативные документы формулируют лишь общие требования к подбору видов растений («устойчивые к местным условиям», «адаптированные к антропогенной нагрузке»), но не содержат ни количественных критериев толерантности, ни утверждённых методик их определения для конкретных поллютантов. Это создаёт разрыв между нормативным требованием и инструментом его выполнения. Без данных о предельно допустимых для растения концентрациях поллютанта проектировщик рекультивации вынужден полагаться либо на эмпирический подбор видов методом проб и ошибок непосредственно на объекте (что удлиняет сроки восстановления и повышает риск гибели растений), либо на литературные данные, полученные для иных почвенно-климатических условий и, как правило, несопоставимые между собой из-за отсутствия единой методики измерения.

Именно поэтому количественное определение пределов толерантности, выполненное по единой стандартизированной методике для набора приоритетных для горнодобывающей и нефтегазовой отрасли поллютантов, представляет собой необходимое дополнение к существующей нормативной базе. Полученные в настоящей работе значения ($LimP_H$) для восьми видов растений и шести типов поллютантов формируют количественную основу, которая может быть использована проектными организациями при разработке проектов рекультивации в соответствии с требованиями ГОСТ Р 59060-2020 – на этапе обоснования выбора видового состава для биологического этапа, до начала полевых испытаний на конкретном объекте.

Дополнительно стандарт ГОСТ Р 57446-2017 «*Наилучшие доступные технологии. Рекультивация нарушенных земель и земельных участков. Восстановление биологического разнообразия*» указывает на необходимость применения научно обоснованных методов подбора растительных сообществ, устойчивых к остаточному загрязнению, что также подтверждает

востребованность разрабатываемой в настоящей диссертации базы данных пределов толерантности.

1.4.2. Стандарты применения высших растений в качестве биоиндикаторов и значение пределов толерантности для их корректного использования

Второй контекст применения данных о фитотолерантности – использование растений в качестве биоиндикаторов состояния загрязнённых территорий. Общие требования к биологическим методам оценки фитотоксичности почв установлены ГОСТ Р ИСО 22030-2009 *«Качество почвы. Биологические методы. Хроническая токсичность в отношении высших растений»*, который регламентирует протокол вегетационного эксперимента (условия культивирования, длительность экспозиции, регистрируемые морфометрические показатели), но не приводит нормативных значений пороговых концентраций для конкретных видов растений и поллютантов – эти значения должны определяться экспериментально применительно к местным условиям и задачам исследования.

ГОСТ Р ИСО 17616-2022 *«Качество почвы. Руководство по выбору и оценке биотестов для экотоксикологической оценки почв и почвенных материалов»* дополняет предыдущий стандарт критериями выбора конкретных тест-организмов и биотестов в зависимости от типа предполагаемого загрязнения и целей исследования, но также оставляет открытым вопрос о количественных пороговых значениях.

Таким образом, оба базовых стандарта задают методическую рамку (*«как проводить биотест»*), но не решают содержательной задачи (*«какие именно значения принимать за норму для конкретного вида и поллютанта»*). Использование растения в качестве биоиндикатора без знания его собственного предела толерантности методологически некорректно: наблюдаемая на загрязнённой территории реакция растения (угнетение роста, хлороз, снижение биомассы) может быть однозначно интерпретирована как сигнал о превышении определённого уровня загрязнения только при наличии предварительно

установленного порогового значения ($LimP_H$) для этого вида и данного загрязнителя. Без такого эталонного значения биоиндикационное наблюдение остаётся описательным и не позволяет перейти к количественной оценке степени загрязнения территории.

Полученная в настоящей работе база данных пределов толерантности восьми видов растений к шести типам загрязнителей закрывает указанный методологический разрыв и позволяет использовать данные виды в качестве полноценных количественных биоиндикаторов в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 22030-2009 и ГОСТ Р ИСО 17616-2022: наблюдаемое в полевых условиях состояние растения сопоставляется с ранее установленным лабораторным значением ($LimP_H$), что позволяет делать обоснованный вывод об уровне загрязнения участка без необходимости прямого химического анализа почвы в каждой точке мониторинга.

Дополнительно при культивировании растений в условиях гидропоники как модельной среды в настоящей работе учитывались требования ГОСТ Р 70575 «*Продукция растениеводства, выращенная методом гидропоники. Технические условия*», регламентирующего общие требования к организации гидропонного культивирования растений, а пробоподготовка растительного материала для последующего химического анализа выполнялась в соответствии с Методическими указаниями по определению тяжёлых металлов в почвах сельхозугодий и продукции растениеводства (ЦИНАО, 1992 г.). Расчёт концентраций загрязнителей в питательном растворе производился на основании значений ПДК/ОДК тяжёлых металлов в почве согласно СанПиН 1.2.3685-21, что обеспечивает сопоставимость лабораторных концентраций с реальными уровнями загрязнения почв, регламентированными действующим санитарным законодательством. Отбор образцов почв для сравнительной серии экспериментов проводился в соответствии с ГОСТ 17.4.4.02-2017 «*Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа*».

1.5. Сравнительный анализ подходов к оценке фитотолерантности:

концепция дозозависимого отклика

Для количественной оценки способности растений противостоять техногенному воздействию необходимы стандартизированные и воспроизводимые методы.

В зоне влияния горнодобывающих предприятий оценка фитотолерантности ориентирована преимущественно на неорганические ТМ и основана на определении пороговых концентраций, при которых подавляются рост, биомасса и физиологические показатели растений; при этом гидропонные тесты позволяют исключить почвенные факторы и изолированно изучать механизмы фитотолерантности.

В нефтегазовой отрасли, помимо ТМ, значительное внимание уделяется органическим поллютантам (углеводородам и ПАВ), которые не только непосредственно угнетают растения, но и изменяют свойства субстрата. Гидропонный подход здесь даёт возможность разделить прямой токсический эффект и эффекты, опосредованные физико-химическими изменениями среды.

Ключевое различие заключается в специфике механизмов токсического действия и, следовательно, в интерпретации полученных данных, причём смешанное загрязнение нефтегазовых территорий требует учёта синергетических и антагонистических взаимодействий между поллютантами.

1.5.1. Концепция дозозависимого отклика

Понятие дозозависимого отклика базируется на фундаментальном принципе токсикологии, согласно которому выраженность ответной реакции организма прямо пропорциональна концентрации воздействующего агента [47]. В применении к фитотолерантности данный принцип позволяет установить диапазон концентраций, в котором растение сохраняет жизненно важные функции, и выявить пороговые уровни, за пределами которых начинаются необратимые нарушения клеточных структур. Зависимость «концентрация—эффект» для большинства фитотоксических соединений описывается S-

образной (сигмоидальной) кривой (Рисунок 1.3) и аппроксимируется уравнением Хилла [48] (формула 1.3.):

$$E = \frac{E_{max} \cdot A^n}{LimP_H + A^n} \quad (1.3.),$$

где E – наблюдаемый эффект (например, ингибирование роста, снижение биомассы и др.), выраженный в % от контроля; E_{max} – максимальный эффект (100% ингибирования – полное подавление роста); A – концентрация токсиканта (доза); $LimP_H$ – концентрация, при которой эффект составляет 50% от максимального; n – коэффициент Хилла (фактор крутизны).

Для каждого вида и поллютанта методом нелинейной регрессии подбирают параметры $LimP_H$ и n . Параметр $LimP_H$ соответствует точке перегиба кривой – концентрации, при которой ростовой показатель снижается на 50% относительно контроля. Высокие значения n (>3) указывают на узкий диапазон между безопасными и токсическими концентрациями. Построенные дозозависимые кривые позволяют прогнозировать поведение растительных сообществ при возрастающей техногенной нагрузке [49].

Формула 1.4 расчёта эффекта представлена ниже:

$$pLimP_H = \log_{10}(LimP_H) \quad (1.4.)$$

Чем выше значение $pLimP_H$, тем ниже эффективная концентрация, то есть тем более токсичен поллютант; и наоборот – более высокие абсолютные значения $LimP_H$ соответствуют большей толерантности растения.

Ключевые точки кривой «концентрация–эффект»:

- EC_{10} – концентрация, при которой эффект достигает 10% (нижняя граница статистически значимого токсического действия).

- $LimP_H$ (EC_{50}) – концентрация, при которой эффект достигает 50%. В настоящей работе этот показатель обозначается как $LimP_H$ (предел фитотолерантности в гидропонной среде) для терминологического соответствия экологическому контексту исследования. Величина при этом остаётся той же – точка на кривой «концентрация–эффект» [50].

- EC_{100} – концентрация, при которой эффект достигает 100% (полная гибель тест-культуры). Определяется экспериментально как минимальная

концентрация, при которой в трёх биологических повторностях зафиксирована 100%-я гибель растений к моменту завершения эксперимента.

В рамках общепринятой токсикологической терминологии количественным критерием дозозависимого отклика служит эффективная концентрация EC_{50} , соответствующая 50%-му уровню ингибирования ростового показателя. В настоящей работе этот показатель используется для определения предела фитотолерантности в гидропонной среде и обозначается как $LimP_H$, что позволяет унифицировать экспериментальные данные и обеспечить их сопоставимость с литературными значениями EC_{50} .

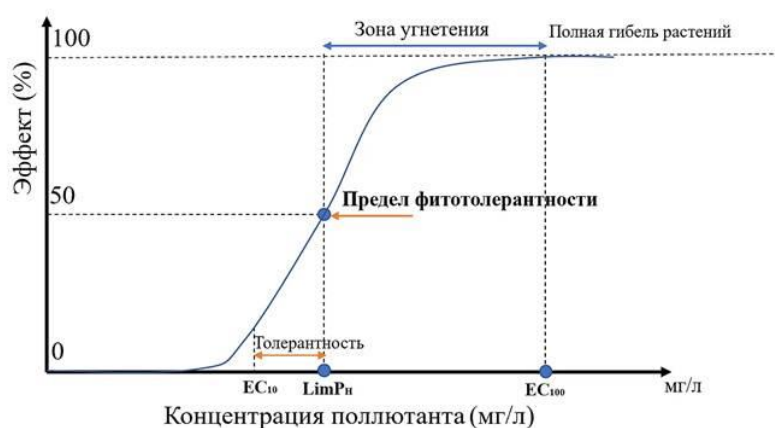


Рисунок 1.3 – Универсальная кривая «концентрация–эффект»:
определение $LimP_H$, EC_{10} и EC_{100}

График на рисунке 1.3 отражает классическую сигмоидальную зависимость эффекта (ось Y , %) от концентрации поллютанта (ось X , мг/л), общую для любого типа поллютанта и любого вида растения. Кривая монотонно возрастает от 0 до 100%. Выделяются три характерных участка: пологий начальный (концентрации ниже EC_{10}), крутой средний (в центре которого при эффекте 50% находится $LimP_H$) и пологий верхний, выходящий на плато 100% в точке EC_{100} . Участок между EC_{10} и $LimP_H$ обозначен как зона толерантности; участок между $LimP_H$ и EC_{100} – как зона угнетения.

Данный график является универсальным инструментом настоящей работы. Именно по этой модели (с помощью уравнения Хилла) аппроксимировались все экспериментальные данные в зависимости от природы поллютанта. Рисунки 1.4 и 1.5 – частные случаи того же самого дозозависимого

отклика, представленные в альтернативной системе координат «интенсивность жизнедеятельности» вместо «эффект», что удобнее для интерпретации при работе с биогенными элементами.

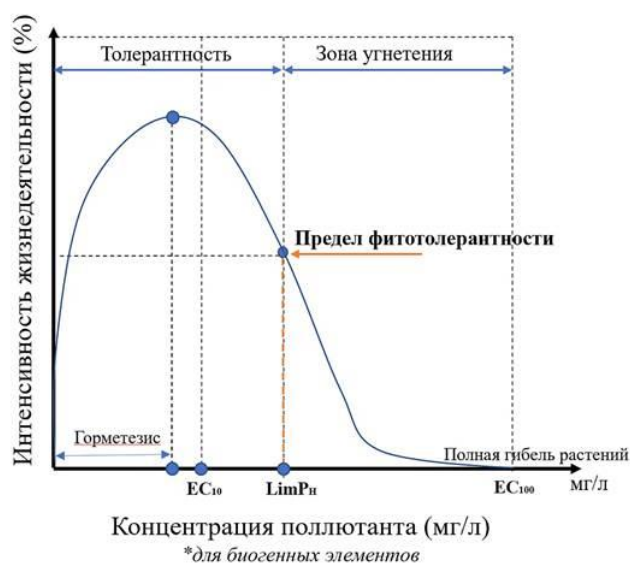


Рисунок 1.4 – Кривая «интенсивность жизнедеятельности – концентрация» для биогенных поллютантов (Zn, ПАВ, высокомолекулярные углеводороды), с эффектом гормезиса

График на рисунке 1.4 используется для поллютантов, которые в микроколичествах являются биогенными (эссенциальными) элементами питания растения. В настоящей работе это в первую очередь Zn, а также ПАВ и высокомолекулярные углеводороды, для которых в сериях экспериментов зафиксирован стимулирующий эффект (гормезис) при низких концентрациях. По оси Y отложена интенсивность жизнедеятельности (рост, биомасса), по оси X – концентрация поллютанта.

Кривая имеет колоколообразную форму. От нулевой концентрации показатель сначала растёт – это гормезис, стимулирующий эффект малых доз эссенциального элемента, положительно влияющих на физиологические процессы растения. По достижении пика роста дальнейшее увеличение концентрации переходит в токсическое действие, и кривая начинает снижаться. Точка ЕС₁₀ фиксирует начало статистически значимого угнетения относительно пикового значения. Далее кривая продолжает падать до точки LimP_n, соответствующей 50%-му угнетению интенсивности жизнедеятельности

относительно пикового уровня. Это и есть предел толерантности данного вида к данному поллютанту. За точкой $LimP_H$ начинается зона угнетения, кривая резко падает к нулю в точке EC_{100} , соответствующей полной гибели растений. Участок графика от начала координат (включая фазу гормезиса) до $LimP_H$ обозначен как толерантность – растение сохраняет и даже усиливает жизнедеятельность на всём этом участке вплоть до предельной концентрации.

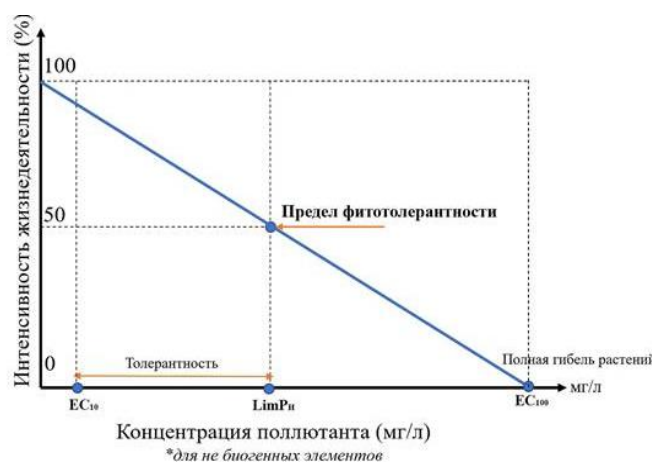


Рисунок 1.5 – Кривая «интенсивность жизнедеятельности – концентрация» для небιοгенных поллютантов (Hg, Cd, Ni), линейная зависимость

График на рисунке 1.5 используется для поллютантов, не выполняющих никакой физиологической функции в растении и оказывающих исключительно угнетающее действие с первых же концентраций. В настоящей работе это Hg, Cd и Ni. В отличие от Рисунка 1.4, здесь отсутствует фаза стимуляции. Интенсивность жизнедеятельности максимальна (100%) уже при нулевой концентрации поллютанта и линейно снижается по мере роста концентрации вплоть до полной гибели растений (0% интенсивности) в точке EC_{100} . Точка $LimP_H$, соответствующая 50%-му снижению интенсивности жизнедеятельности относительно исходного уровня, – предел толерантности данного вида к данному поллютанту. Участок между EC_{10} и $LimP_H$ обозначен как толерантность – диапазон концентраций слабого, но нарастающего угнетения, ещё не достигающего 50%-го порога.

1.6. Сравнительный анализ существующих методологий оценки фитотолерантности

Помимо гидропонного подхода, применяемого в настоящей работе, в мировой и отечественной практике сформировался ряд альтернативных методологий оценки фитотолерантности и фитотоксичности, каждая из которых обладает собственной областью применимости, преимуществами и ограничениями. Сопоставление данных методологий необходимо для обоснованного выбора гидропоники в качестве модельной среды.

Полевые вегетационные испытания предполагают непосредственное культивирование тест-культур на загрязнённом участке или на специально подготовленных делянках с внесением поллютанта в почву. Основное преимущество метода – максимальная экологическая релевантность результатов, поскольку растение развивается в естественных почвенно-климатических условиях с учётом реального комплекса биотических и абиотических факторов. Однако метод требует нескольких вегетационных сезонов (как правило, от одного до трёх лет для получения статистически значимых данных), характеризуется высокой погрешностью измерений (разброс накопления поллютантов в пределах одного опытного участка достигает 200% и более вследствие пространственной неоднородности почвенного покрова) и не позволяет варьировать отдельные факторы независимо друг от друга.

Почвенные вегетационные исследования (мезокосмы) представляют собой промежуточный вариант между полевыми испытаниями и лабораторными методами. Растения культивируются в контролируемых условиях теплицы или климатической камеры, но в почвенном субстрате с внесёнными поллютантами. Метод позволяет частично контролировать климатические параметры (температуру, освещённость, влажность воздуха), однако не устраняет влияния свойств самой почвы – сорбционной ёмкости, содержания органического вещества, кислотности, активности почвенной микробиоты, которые определяют фактическую биодоступность поллютанта и вносят существенный разброс в результаты сравнения видов.

Биотесты на культурах клеток и проростках (лабораторные экспресс-методы) – например, тест ингибирования прорастания семян или тест удлинения корня по ГОСТ Р ИСО 11269-1, обеспечивают высокую скорость получения результата (несколько суток) и хорошую воспроизводимость, но применимы только для оценки острой токсичности на ранних стадиях онтогенеза растения и не отражают устойчивость взрослого растения на протяжении полного вегетационного цикла, что ограничивает их применимость для задач подбора видов-фиторемедиантов и долгосрочного биоиндикационного мониторинга.

Гидропонные системы как модельная среда занимают промежуточное положение между лабораторными экспресс-методами и почвенными испытаниями. С одной стороны, они, как и экспресс-биотесты, обеспечивают полный контроль условий среды и высокую воспроизводимость результатов; с другой стороны, в отличие от экспресс-методов, гидропоника позволяет культивировать растение на протяжении полного вегетационного цикла и получать данные не только об острой, но и о хронической токсичности, включая накопление поллютанта в биомассе.

Сопоставление рассмотренных методологий по ключевым параметрам приведено в таблице 1.4.

Таблица 1.4 – Сравнительная характеристика методологий оценки фитотолерантности

Параметр	Полевые испытания	Почвенные мезокосмы	Экспресс-биотесты	Гидропоника
Длительность	1–3 вег. сезона	1 вег. сезон	до 1 нед.	2–5 недель
Разброс данных результатов	до 250–300%	до 100–200%	низкий (10–20%)	до 10–15%
Контроль биодоступности поллютанта	отсутствует	частичный	высокий	полный
Оценка хронической токсичности	да	да	нет	да
Оценка накопления (КБА, КТ)	да, точно	да	нет	да, точно
Близость к натурным условиям	максимальная	высокая	низкая	условная, требует пересчёта
Трудоёмкость и стоимость	очень высокие	высокие	низкие	умеренные

Общим фактором для полевых испытаний и почвенных мезокосмов, применяемых в равной мере в горнодобывающей и нефтегазовой отраслях, остаётся использование предела толерантности (концентрации поллютанта, вызывающей значимое угнетение или гибель растительных организмов) в качестве универсального количественного критерия. Различие между отраслями состоит в специфике приоритетных поллютантов и, соответственно, в интерпретации получаемых данных. Для горнодобывающей отрасли в фокусе находятся ТМ, для нефтегазовой – дополнительно органические поллютанты (углеводороды, ПАВ), при работе с которыми необходимо учитывать синергетические и антагонистические эффекты смешанного загрязнения.

Проведённое сопоставление показывает, что ни одна из альтернативных методологий не обеспечивает одновременно высокую воспроизводимость, контроль биодоступности поллютанта и возможность оценки полного вегетационного цикла при разумных временных и материальных затратах. Именно совокупность этих трёх требований определила выбор гидропоники как основной модельной среды настоящего исследования и обосновывает необходимость разработки унифицированной методологии гидропонного эксперимента, которой посвящена глава 2 диссертации.

1.7. Гидропоника, как модельная система для изучения фитотоксичности

Традиционные методы оценки фитотоксичности, основанные на почвенных экспериментах, имеют ряд существенных методологических ограничений. Влияние физико-химических свойств почвы (гранулометрического состава, сорбционной емкости, содержания органического вещества и др.) вносит в результаты, снижая их дальнейшую воспроизводимость. По литературным данным, разброс накопления ТМ растениями в пределах одного опытного участка может достигать 250–300%, что исключает возможность корректного межвидового сравнения [51]. Это обуславливает необходимость применения контролируемой модельной системы.

Рассмотрим разновидности гидропонных установок. На рисунке 1.6 представлены некоторые виды гидропонных установок.



Рисунок 1.6 (а, б, в, г, д, е) – Разновидности гидропонных установок

Использование гидропонники в экотоксикологических исследованиях, помимо перечисленных в разделе 1.6 общих преимуществ по сравнению с альтернативными методологиями, обеспечивает ряд практических характеристик применительно к задаче определения пределов толерантности:

1. *Полный контроль параметров среды.* Возможность точного дозирования поллютантов, поддержания заданных значений pH, температуры, освещённости и электропроводности питательного раствора.

2. *Исключение искажающего влияния посторонних неконтролируемых факторов почвенной среды.* Растение напрямую контактирует с поллютантом в его биодоступной форме, что позволяет изолировать физиологический ответ и определить именно собственный предел толерантности вида, а не результат совместного действия растения и почвенного матрикса.

3. *Высокая воспроизводимость результатов.* Стандартизация условий снижает коэффициент вариации с 250–300% в почвенных опытах до 10–15% в гидропонных системах.

4. *Сокращение сроков эксперимента.* Гидропонные тесты, как правило, длятся 14–38 суток в зависимости от задач серии, тогда как почвенные испытания могут занимать несколько вегетационных сезонов.

5. *Возможность последующей верификации.* Полученные в контролируемой гидропонной среде значения $LimP_H$ могут быть систематически сопоставлены с почвенными данными $LimP_s$ через коэффициент пересчёта « k » (см. раздел 1.8), что решает низкую экологическую релевантность.

Для токсикологических исследований в большинстве случаев применяют два основных типа гидропонных установок. Периодические системы (Рисунок 1.7) содержат питательный раствор, периодически заменяемый. Они просты в использовании и хорошо подходят для краткосрочных экспериментов по оценке острой токсичности [52]. Проточные системы обеспечивают непрерывную циркуляцию питательного раствора через корневую зону; они предпочтительны для длительных опытов с летучими или нестабильными поллютантами.

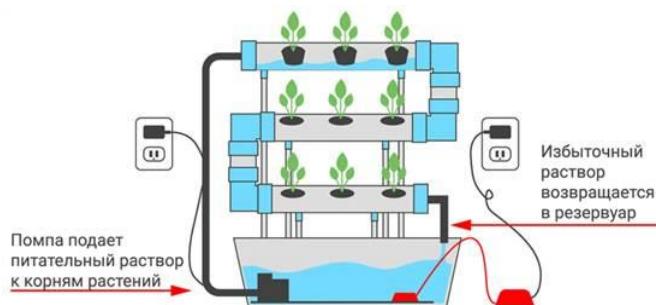


Рисунок 1.7 – Гидропонная установка периодического затопления

В зарубежной, как и отечественной практике не имеется достаточно опыта в применении гидропоники для оценки фитотоксичности. Ученые применяли гидропонный метод для скрининга сортов ячменя по толерантности к Cd [53].

1.8. Проблема корректности переноса результатов гидропонных экспериментов в полевые условия

При использовании гидропоники, как модельной экспериментальной среды, ключевым методологическим вопросом остается степень достоверности

полученных результатов для прогнозирования поведения растений в реальных почвенных и полевых условиях.



Рисунок 1.8 - Показатели влияния различных параметров на проведения гидропонного эксперимента и почвенного



Рисунок 1.9 - Показатели влияния различных параметров на проведения гидропонного эксперимента и почвенного

На рисунках 1.8-1.9 отображены зависимости параметров при проведении экспериментов в гидропонике и в почвенной среде. Гидропонная система обеспечивает контроль всех ключевых параметров (освещение, температура, влажность, состав раствора), тогда как в почвенном эксперименте часть факторов остаётся вне контроля исследователя [57]. В почве биодоступность загрязнителей снижается за счёт сорбции и комплексообразования, поэтому значения $LimP_H$ в гидропонике могут в 3–10 раз превышать почвенные $LimP_S$, особенно на почвах с высокой сорбционной ёмкостью. Кроме того, почвенная микробиота способна как детоксицировать, так и трансформировать загрязнители в более токсичные формы [58].

Для преодоления расхождений между лабораторными и полевыми данными применяются два подхода. Первый – введение эмпирического

коэффициента пересчёта «к», определяемого как отношение $LimP_S$ к $LimP_H$ для каждой пары «вид – тип почвы» по формуле 1.5:

$$LimP_S = k \times LimP_H \quad (1.5.)$$

По результатам работы установлена значимая корреляция ($r = 0,89$, $p < 0,01$) между гидропонными и почвенными пределами толерантности. Коэффициент «к» варьируется от 0,65 до 1,42 в зависимости от вида, поллютанта и типа почвы; $k > 1$ указывает на повышенную биодоступность в почве, $k < 1$ – на её иммобилизацию. Вторым подходом – двухступенчатая схема. Высокопроизводительный гидропонный скрининг с последующей обязательной проверкой перспективных видов в почвенных мезокосмах, что сочетает скорость и экономичность с экологической релевантностью [59].

Перспективы повышения точности экстраполяции связаны с созданием математических моделей на основе физико-химических свойств почв, применением буферных добавок и использованием методов машинного обучения [60, 61].

1.9. Обоснование необходимости разработки нового методологического подхода и постановка задач исследования

Проведённый в настоящей главе анализ, включающий обзор нормативно-правовой базы биологического этапа рекультивации и биоиндикационного мониторинга (раздел 1.4), сравнение существующих методологий оценки фитотолерантности (раздел 1.6) и разделы 1.7-1.8 позволяют сформулировать научное противоречие и обосновать направление диссертационной работы.

Действующие стандарты ГОСТ Р ИСО 22030-2009 и ГОСТ Р ИСО 17616, равно как и нормативные документы, регламентирующие биологический этап рекультивации (ГОСТ Р 59060-2020, ГОСТ 17.5.3.04-83, ГОСТ Р 57446), задают методическую рамку проведения биотестов и общие требования к подбору растений, но не содержат конкретных количественных значений пределов толерантности для различных видов высших растений и приоритетных для горнодобывающей и нефтегазовой отраслей поллютантов. Это создаёт разрыв

между нормативным требованием обосновывать выбор видов при проектировании рекультивации и биоиндикационном мониторинге и фактическим отсутствием стандартизированной и общедоступной базы данных, которая могла бы использоваться для такого обоснования.

При использовании растений в качестве биоиндикаторов для оценки токсического загрязнения почв необходимы достоверные количественные данные об уровне фитотолерантности каждого вида к конкретному поллютанту. Для задач фиторемедиации одной лишь толерантности недостаточно; требуется также способность к накоплению ТМ в надземной биомассе и последующая утилизация. В настоящей работе основной акцент сделан на фитоиндикационной функции растений. Это позволяет использовать полученные значения пределов толерантности ($LimP_H$) для оценки состояния загрязнённых территорий [64].

Высокая стоимость и продолжительность почвенных экспериментов ограничивают количество исследуемых видов и поллютантов, формируя существенный пробел в базе данных, охватывающей одновременно несколько видов растений и несколько классов поллютантов в идентичных условиях [62]. Отсутствует также методология расчёта корреляционных коэффициентов для перевода гидропонных данных в почвенные значения, что ограничивает прикладную ценность существующих лабораторных исследований.

Наиболее эффективным инструментом для первичного количественного определения фитотолерантности является гидропонная модельная среда. А для обеспечения прикладной ценности данных требуется комплексный стандартизированный подход, включающий:

1. Оптимизированный состав питательного раствора, химически стабильного в диапазоне рабочих pH и не взаимодействующего с поллютантами;
2. Унифицированная методология эксперимента с контролем температуры, освещённости, pH и сменой раствора на протяжении всего опыта;
3. Определение предела фитотолерантности в гидропонной среде ($LimP_H$) как основного количественного показателя для набора видов растений и приоритетных поллютантов (Cd, Ni, Hg, Zn, ПАВ, нефтепроизводные);

4. Расчёт КБА и КТ, позволяющих ранжировать виды по пригодности для конкретных стратегий фиторемедиации;

5. Проверку гидропонных данных через параллельные почвенные эксперименты и расчёт корреляционных коэффициентов « k » для каждой пары «вид – поллютант – тип почвы», обеспечивающих экстраполяцию лабораторных результатов на полевые условия;

6. Разработку программного инструмента, автоматизирующего подбор видов-фиторемедиантов на основе сформированной базы данных $LimP_H$.

Данный методологический подход принципиально отличается от фрагментарных исследований, опубликованных в литературе, системностью охвата, наличием стандартизированного протокола и алгоритма перевода лабораторных данных в прикладные рекомендации. Его практическая значимость определяется возможностью сократить сроки подбора видов для дальнейшей очистки загрязнённых территорий в 2–4 раза и снизить стоимость исследований в 3–5 раз по сравнению с традиционными почвенными методами при сопоставимой экологической релевантности результатов.

1.10. Выводы по Главе 1

В первой главе диссертации проведен комплексный анализ проблемы техногенного загрязнения почвенной среды, рассмотрены механизмы фитотоксического действия приоритетных поллютантов, проанализированы существующие методологические подходы к оценке фитотолерантности и обоснована необходимость разработки новой экспериментальной платформы.

Получены следующие выводы по главе:

1. Установлено, что основными техногенными источниками загрязнения почв в промышленных регионах РФ являются предприятия горнодобывающего и нефтегазового комплексов. Проанализированы основные поллютанты.

2. Сравнительный анализ механизмов фитотоксичности показал их принципиальное различие для трёх групп поллютантов. Различия в динамике и механизмах токсического действия обосновывают необходимость

использования гидропоники как модельной среды, позволяющей исключить почвенные «шумы» и изолированно оценивать физиологический ответ растения на каждый класс поллютантов.

3. Проведен критический анализ действующих нормативных документов для биологического этапа рекультивации и биоиндикационного мониторинга, которые задают общие методические требования, но не содержат количественных значений пределов толерантности для конкретных видов растений и поллютантов. Проанализирован вопрос в методологическом разрыве между нормативным требованием и инструментом практического исполнения.

4. Сравнительная оценка существующих методологий по определению фитотолерантности показала, что гидропоника обеспечивает высокую воспроизводимость, контролируемую биодоступность поллютантов и возможность оценки вегетационного цикла при приемлемых временных (14–38 суток) и материальных затратах.

5. Проанализированы системы адаптации растений к поллютантам (фитохелатины, металлотионеины, стратегии исключения и накопления и др.), и предложена количественная мера фитотолерантности – предел фитотолерантности $LimP$.

6. Выявлено центральное методологическое противоречие гидропонного подхода – различие в биодоступности поллютантов в гидропонике и почве; для его преодоления предложен коэффициент пересчёта « k », определяемый как отношение пределов толерантности в почве ($LimP_s$) и в гидропонике ($LimP_H$), позволяющий экстраполировать лабораторные данные на полевые условия.

7. Обоснована необходимость разработки комплексного методологического подхода, включающего унифицированный протокол эксперимента, определение $LimP_H$ и $LimP_s$ для репрезентативного набора видов и поллютантов, расчёт коэффициентов биоаккумуляции и транслокации, вычисление коэффициента « k », а также создание программного инструмента для автоматизированного подбора видов-фиторемедиантов и биоиндикаторов.

ГЛАВА 2. МЕТОДОЛОГИЯ ОЦЕНКИ ФИТОТОЛЕРАНТНОСТИ В ГИДРОПОНИКЕ КАК МОДЕЛЬНОЙ СРЕДЕ

Полученные в первой главе данные о механизмах фитотоксичности приоритетных загрязнителей промышленных территорий, существующем разнообразии стратегий толерантности растений и ограничениях традиционных почвенных методик определили задачи настоящей главы. Здесь представлена методология количественной оценки фитотолерантности, разработанная на базе кафедры ЮНЕСКО «Зеленая химия для устойчивого развития» РХТУ им. Д.И. Менделеева. Описаны методические основы экспериментального подхода, конструкция гидропонной установки, состав разработанного питательного раствора с хелатированными микроэлементами, протоколы предпосевной обработки семян, схемы внесения поллютантов, методы морфометрических наблюдений и аналитического определения поллютантов в биомассе, а также детально разобран ход каждой из четырех вегетационных серий, выполненных в период с 28 марта 2023 г. по 10 мая 2025 г.

2.1. Объекты исследования

2.1.1. Подбор тест-культур

В качестве основных тест-культур использованы восемь видов высших растений, пригодных для использования в целях биоиндикации: кресс-салат (лат. «*Lepidium sativum*») [66], горчица сарептская (лат. «*Brassica juncea*»)[67], мятлик луговой (лат. «*Poa pratensis*») [68], щавель обыкновенный (лат. «*Rumex acetosa*») [69], томат (лат. «*Solanum lycopersicum*») [70], базилик обыкновенный (лат. «*Ocimum basilicum*») [71]. В отдельных сериях дополнительно изучены амарант багряный (лат. «*Amaranthus cruentus*»), дайкон (лат. «*Aphanus raphstrum subsp Sativus*»), клевер красный (лат. «*Trifolium rubens*») и пшеница (лат. «*Triticum*»).

Выбор основных вариантов тест-культур определялся тремя критериями:

1. *Таксономическое разнообразие* – растения принадлежат пяти семействам (лат. *Brassicaceae*, *Poaceae*, *Polygonaceae*, *Solanaceae*, *Lamiaceae*) с принципиально разными физиологическими стратегиями реакции на стресс.

2. *Широкий диапазон ожидаемой фитотолерантности.* Горчица сарептская – наиболее эффективный биоаккумулятор Cd^{2+} , Zn^{2+} , тогда как базилик и кресс-салат – биоиндикаторы в токсикологических тестах [72].

3. *Практическая применимость* – мятлик востребован для озеленения санитарно-защитных зон, томат и кресс-салат позволяют оценить риск для пищевых культур [73].

2.1.2. Подбор поллютантов

В качестве модельных загрязнителей в работе исследованы три класса веществ, характерных для зон влияния горнодобывающих и нефтегазовых предприятий: соли ТМ ($\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – для основных серий; HgCl_2 – для дополнительных тестов), анионное ПАВ (алкилбензолсульфонаты) и высокомолекулярные углеводороды (алифатические, ациклические и полициклические соединения).

Выбор именно Cd , Ni и Zn для основных серий обусловлен их систематическим присутствием в почвах промышленных кластеров с превышением ПДК в десятки раз, а также принципиальными различиями в механизмах фитотоксичности [75]. Все реактивы использованы квалификации «ч.д.а.»: $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Реахим, $\geq 99\%$), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Реахим, $\geq 99\%$), $\text{NiSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ((Реахим, $\geq 99\%$); HgCl_2 (Реахим, $\geq 99\%$). Вода во всех опытах – бидистиллированная. Навески солей взвешивали на аналитических весах «МЛ 0,2-I В1Ж Ньютон ГЛС» с точностью до $\pm 0,0001$ г (Рисунок 2.2).

Приготовление растворов поллютантов проводили следующим образом. Для солей ТМ навески соответствующих кристаллогидратов растворяли в дистиллированной воде до полного растворения, после чего аликвоты полученных растворов вносили в питательный раствор перед циклом подачи насоса. Концентрацию ионов металла (мг/л) задавали расчётом, исходя из требуемой кратности ПДК.

Для проведения экспериментов в сериях III-V приготавливались растворы трех солей: $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Рисунок 2.3), $\text{NiSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ и $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – для шести значений концентраций, превышающих ПДК в 1, 5, 10, 50, 100, 200 раз.



Рисунок 2.1 –
Магнитная мешалка для
перемешивания «OLab
MSF-1717MAN»



Рисунок 2.2 –
Лабораторные
аналитические весы МЛ
0,2-1 В1Ж Ньютон ГЛС



Рисунок 2.3 – Реактив
($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)

Точные навески солей ТМ рассчитывались исходя из ПДК металлов в почве по ГН 2.1.7.2041-06: Cd^{2+} – 2 мг/кг, Zn^{2+} – 23 мг/кг, Ni^{2+} – 4 мг/кг. Для уровня 1 ПДК навеска соответствующей соли подбиралась так, чтобы в одном литре рабочего раствора содержалось 0,5 мг Cd^{2+} , 23 мг Zn^{2+} или 4 мг Ni^{2+} соответственно (Рисунок 2.4).



Рисунок 2.4 – Навески соли для эксперимента

Расчет навески соли на 1 л рабочего раствора производился по общей формуле 2.1.:

$$m_{\text{соли}} = \frac{m_{\text{Me}} \cdot Mr_{\text{соли}}}{Mr_{\text{Me}}} \quad (2.1.),$$

где m_{Me} – требуемая концентрация металла (мг/л), $M_{\text{к соль}} \cdot n\text{H}_2\text{O}$ и Mr_{Me} – молярные массы кристаллогидрата соли и металла (г/моль).

Примеры расчетов массы навесок соли кристаллогидратов для цинка и кадмия приведены ниже:

ZnSO₄·7H₂O

ПДК для Zn²⁺ в почве: 23 мг/кг.

M(ZnSO₄) = 163,1 г/моль; M(ZnSO₄·7H₂O) = 289,1 г/моль.

Навески ZnSO₄·7H₂O (ПДК Zn²⁺ = 23 мг/кг, M = 289,1 г/моль) на 1 л: 0,041 г (1 ПДК), 0,204 г (5 ПДК), 0,408 г (10 ПДК), 2,039 г (50 ПДК), 4,079 г (100 ПДК), 8,157 г (200 ПДК).

Cd(NO₃)₂·4H₂O.

ПДК для Cd²⁺ в почве: 2 мг/кг.

M(Cd(NO₃)₂) = 236 г/моль; M(Cd(NO₃)₂·4H₂O) = 308 г/моль.

Навески Cd(NO₃)₂·4H₂O (ПДК Cd²⁺ = 2 мг/кг, M = 308 г/моль): 0,0026 г (1 ПДК), 0,013 г (5 ПДК), 0,026 г (10 ПДК), 0,13 г (50 ПДК), 0,26 г (100 ПДК), 0,52 г (200 ПДК).

Для ртути готовили стандартный раствор HgCl₂ концентрацией 210–420 мг/л по Hg в подкисленной воде (pH 3,0), аликвоты которого добавляли в питательный раствор перед запуском насоса. Для органических поллютантов (ПАВ и WD-40) готовили дисперсии в питательном растворе при интенсивном перемешивании на магнитной мешалке при 750 об/мин, 15 мин (Рисунок 2.1) непосредственно перед внесением в установку.

2.1.3. Подбор гидропонной установки

Эксперименты проводились на трехъярусной гидропонной установке типа периодического затопления (тип англ. «*Ebb & Flow*», рус. «*прилив–отлив*»). Конструктивно установка представляла собой металлический стеллаж с полками длиной 1,8 м и накопительным резервуаром на 30 л в нижней части. На каждой полке размещались пластиковые поддоны-контейнеры объемом 4–5 л с минераловатным субстратом. Суммарная вместимость установки – 108 позиций, что обеспечивает достаточный параллелизм для одновременного ведения нескольких вариантов опыта в идентичных климатических условиях. На рисунке 2.5 представлена фотография общего вида реальной установки, в которой проводились все серии экспериментов.

Раствор подавался погружным компенсационным насосом производительностью 600 л/ч; цикл подтопления – 15 минут каждые 4 часа. Аэрация в накопительном резервуаре поддерживалась аквариумным компрессором (4–8 л/мин) с распылителем в нижней части бака. Насос управлялся таймером; режим затопления подбирался индивидуально для каждой серии в зависимости от стадии развития растений.



Рисунок 2.5 – Общий вид трехъярусной гидропонной установки

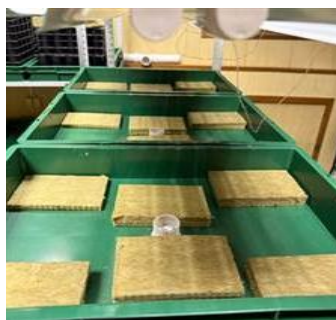


Рисунок 2.6 – Контейнеры с минераловатными матами

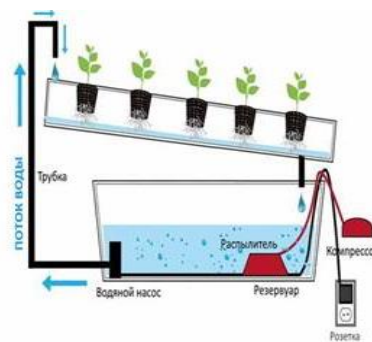


Рисунок 2.7 – Принципиальная схема гидропонной установки периодического затопления

Цикл «прилив – отлив» был выбран как наиболее физиологичный для большинства тест-культур: активная фаза подтопления обеспечивает корни питательным раствором, а межцикловая фаза предоставляла свободный доступ к кислороду для предотвращения анаэробноза корневой зоны [76].

В качестве субстрата применялась минеральная вата в виде блоков размером 25×19 см толщиной 4 см. Минеральная вата химически инертна по отношению к ионам ТМ, не имеет катионно-обменной емкости и не сорбирует растворенные поллютанты, что критически важно для воспроизводимости результатов в токсикологических экспериментах [77]. Перед использованием маты замачивались на 24 часа в дистиллированной воде при $pH=5,8$ (предварительно подкисленной уксусной кислотой) для нейтрализации остаточной щелочности и уравнивания pH среды. На рисунке 2.6 отображен контейнер с минераловатным субстратом. В связи с тем, что их толщина 1 см, то их укладывали на поддоне в 2 слоя.

На рисунке 2.7 представлена принципиальная схема гидропонной установки типа периодического затопления, в котором указаны все важные механизмы конструкции.

2.1.4. Подбор питательного раствора

Одним из наиболее важных факторов гидропонного производства считается гидропонный раствор, поставляющий питание в виде макро- и микроэлементов для растений. В токсикологических экспериментах к нему предъявляется дополнительное требование: компоненты раствора не должны взаимодействовать с исследуемыми поллютантами, изменяя их биодоступность. Именно здесь заключается принципиальный недостаток стандартных коммерческих растворов. При pH выше 7 свободные ионы Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} осаждаются в виде гидроксидов [78].

При сравнении с коммерческим раствором «*GHE Flora Series*» (Рисунок 2.8), наиболее распространенным прототипом, обнаружена нестабильность коммерческого раствора при pH выше 7. Также содержание азота недостаточно для поддержания нормального роста всех исследованных видов [79]. Раствор Хьюитта (патент РФ №2636468) стабилизирован закислением до pH 2,0–2,2, что неприемлемо для токсикологических опытов.



Рисунок 2.8 - Стандартная серия гидропонных растворов GHE

Особое значение имеет применение микроэлементов в хелатной форме. Это предотвращает их осаждение при контакте с поллютантами и обеспечивает стабильную биодоступность. В настоящей работе при участии авторского коллектива разработан и запатентован состав питательного раствора с применением микроэлементов Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} исключительно в хелатной форме (патент РФ № RU2808836C1), что обеспечивает химическую стабильность среды в диапазоне pH 6,5–8,0 и позволяет проводить длительные

токсикологические эксперименты с минимальным дрейфом условий [55]. На рисунке 2.9 схематически отображено взаимодействие микроэлемента в хелатной форме и последующее его хелатирование. Также на рисунке 2.10 показан механизм внедрения хелатирующего агента в ион микроэлемента.

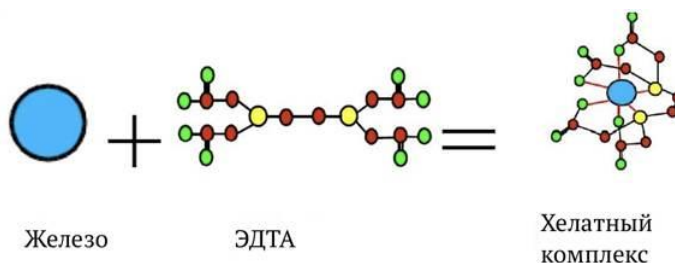


Рисунок 2.9 - Образование хелатной формы микроэлемента железа Fe

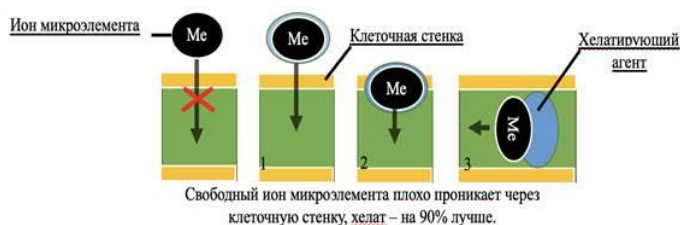


Рисунок 2.10 - Механизм внедрения хелатирующего агента сквозь клеточную стенку



Рисунок 2.11 - График зависимости усвояемости элементов в зависимости от pH

Необходимо соблюсти оптимальный уровень pH при котором наблюдается максимальная усвояемость микроэлементов в хелатной форме. Самый оптимальный уровень pH находится на уровне с 5.8 до 6.4. На рисунке 2.11 представлен визуальный график зависимости усвояемости элементов [56].

Состав был оптимизирован специально для решения задач токсикологического тестирования, требующих длительной химической стабильности среды и точного дозирования ионов загрязнителей [80].

Концентрат содержит макроэлементы в следующих массовых долях, отраженных в таблице 2.1. Источниками макроэлементов служили: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, KNO_3 , KH_2PO_4 и K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, а также соли Fe^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} в виде хелатных комплексов с этилендиаминтетрауксусной

кислотой (ЭДТА) и диэтилентриаминпентауксусной кислотой (ДТПА). Все реактивы имели следующие маркировки степени чистоты химреактивов: «х.ч.» и «ч.д.а.» (АО «ЛенРеактив») [81].

Таблица 2.1 – Содержание ионов в питательном растворе в% масс. долей

Элемент	с, %	Ион	Концентрация, мг/л
NO_3^-	29,87	Анион	142,1
K^+	21,40	Катион	119,8
Ca^{2+}	16,75	Катион	80,2
HPO_4^{2-}	13,45	Анион	41,3
Mg^{2+}	6,72	Катион	24,4
SO_4^{2-}	9,15	Анион	22,6
NH_4^+	1,98	Катион	8,7
Fe (EDTA)	0,42	Хелат	1,8
Mn (EDTA)	0,14	Хелат	0,5
Zn (EDTA)	0,05	Хелат	0,3
Cu (EDTA)	0,04	Хелат	0,2
H_3BO_3	0,03	Молекулярная форма	0,4

Хелатная форма выбрана, так как она обеспечивает воспроизводимую биодоступность микроэлементов в широком диапазоне pH 6,5–8,0; свободные ионы Fe^{3+} и Cu^{2+} при pH более 6,5 склонны к осаждению в форме гидроксидов, что снижает их доступность для растений и нарушает воспроизводимость опыта. Также из-за того, что хелатные формы микроэлементов минимизируют конкурентное связывание с вносимыми ионами ТМ, что критично для корректной интерпретации токсикологических данных [82].

Рабочий раствор для гидропоники готовился разведением концентрата из расчета 7,5 мл на 1 литр дистиллированной воды непосредственно перед использованием. pH рабочего раствора корректировался до $6,8 \pm 0,2$ ед. растворами 0,1Н КОН или 0,1Н CH_3COOH под контролем pH-метра. Электропроводность рабочего раствора составляла 1,8–2,2 мСм/см. Стабильность раствора подтверждена контрольными измерениями: при 51-суточном культивировании отклонение pH составляло не более 0,2 ед., тогда как у коммерческого раствора GHE Flora Series отклонения достигали 0,8–1,2 ед. вследствие осаждения микроэлементов [83, 84].

Порядок синтеза концентрата:

1. В 600 мл дистиллированной воды при перемешивании последовательно растворяли соли макроэлементов: нитрат аммония (NH_4NO_3), дигидроортофосфат калия (KH_2PO_4), хлорид кальция (CaCl_2), нитрат магния ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$), сульфат калия (K_2SO_4). Порядок добавления важен: нитраты вносились первыми, сульфаты и фосфаты – последними для минимизации образования малорастворимых осадков CaHPO_4 и CaSO_4 .

2. Отдельно в 200 мл воды при нагревании до 40°C и перемешивании 30 мин. растворяли хелатные комплексы: Fe-EDTA, Cu-EDTA, Zn-EDTA, Mn-EDTA, борную кислоту (H_3BO_3), аммоний молибденовокислый.

3. Хелатный раствор добавляли к макроэлементному при непрерывном перемешивании; объем доводили до 1 л. дистиллированной водой.

4. pH концентрата корректировали до 6,5–8,0 добавлением 1N KOH (при снижении ниже 6,5) или CH_3COOH (при превышении 8,0). При необходимости через 24 ч концентрат фильтровали для удаления мелкодисперсного осадка.

На рисунке 2.12 представлена фотография водяной бани, в которой производили растворение химических реагентов.



Рисунок 2.12. «Приготовление хелатного гидропонного раствора в водяной бане»

Состав концентрата в масс.% в пересчете на элементы составлял: 4,4% N, 4,0% K, 6,13% P, 0,18% Ca, 0,09% Mg, 0,2% S, 0,005% Fe, 0,28% B, 0,0005% Cu, 0,001% Zn, 0,002% Mn, 0,057% Mo.

2.1.5. Обработка семян тест-культур

Для каждого вида растения отсчитывалось 90–100 семян – точное число необходимо для последующего расчета процента всхожести в условиях отсутствия почвы. Перед обеззараживанием семена проходили калибровку. Их погружали в 3–5%-й водный раствор перманганата калия (KMnO_4), перемешивали и выдерживали 3–5 мин. Всплывшие семена (пустые, нежизнеспособные) сливали вместе с раствором. Осевшие на дно семена промывали проточной водой и подсушивали при комнатной температуре вдали от прямого тепла (Рисунок 2.13). Этот простой прием позволяет исключить нежизнеспособный материал еще до начала эксперимента и обеспечить однородный исходный биологический материал.

Подготовка семенного материала включала четыре последовательные процедуры, выполняемые непосредственно перед каждой серией.

Калибровка. Семена просеивались через сита с диаметром ячеек 1 и 2 мм; для эксперимента отбирались выровненные семена средней фракции, исключались деформированные, окрашенные неравномерно и недозрелые экземпляры. Калибровка обеспечивала однородность посевного материала и снижала разброс сроков прорастания внутри партии.



Рисунок 2.13 – Подсушивание семян растений после промывания проточной водой



Рисунок 2.14 – Семена растений на этапе обеззараживания слабым раствором KMnO_4

Обеззараживание. Калиброванные семена погружались на 15–20 минут в 0,1% водный раствор перманганата калия при комнатной температуре (Рисунок 2.14). Раствор готовили непосредственно перед обработкой растворением навески «ч.д.а.» в дистиллированной воде; pH раствора 5,5–6,0 поддерживали добавлением нескольких капель 1% H_2SO_4 . После обработки семена

промывались дистиллированной водой. Обеззараживание устраняет поверхностную микробиоту и грибковые споры, способные вызвать загнивание семени или искажение динамики прорастания [85].

Замачивание и проращивание. Обеззараженные семена выдерживались 30 минут в разведенном разработанном питательном растворе (концентрация 0,5 от рабочей) для активации ферментных систем зерна и равномерного начала прорастания. Затем семена раскладывались в стерильные чашки Петри (диаметр 90 мм) на двойной слой фильтровальной бумаги, увлажненной дистиллированной водой (Рисунок 2.15). Чашки закрывались крышками и помещались в термостат при 24 ± 1 °C в темноте на 24–48 ч в зависимости от вида [105]. О готовности к высадке сигнализировало появление корешка длиной не менее 5 мм при сохранении целостности оболочки семени.



Рисунок 2.15 – Откалиброванные семена тест-культур в чашках Петри



Рисунок 2.16 – Рассадка семян в минераловатном субстрате

Рассадка в субстрат. В центре верхней грани каждого кубика минеральной ваты проделывалось отверстие диаметром 5–6 мм., проросток помещался в отверстие так, чтобы семядоли находились над поверхностью субстрата, а корень полностью оказывался в просвете ваты. Кубик устанавливался в контейнер установки; нижний его торец слегка касался питательного раствора, обеспечивая капиллярное увлажнение. В каждом контейнере размещалось 6 кубиков – по одному растению каждого вида.

Проросшие семена помещались в подготовленные минераловатные блоки на глубину 0,5 см от поверхности (Рисунок 2.16). В каждый мат высаживалось от 6 до 20 семян одного вида в зависимости от размера семян и плана серии. После рассадки маты переносились в контейнеры гидропонной установки.

2.1.6. Прочие параметры

Для контроля параметров гидропонного раствора использовались рН-метр «PH-009(I)» (точность $\pm 0,1$ ед.), кондуктометр карманный «HM Digital EC-3» (точность $\pm 0,01$ мСм/см), термометр электронный «Testo 925» (точность $\pm 0,1$ °C), которые представлены на рисунке 2.17. Замеры производились в трех точках накопительного резервуара с последующим усреднением.



Рисунок 2.17 – Фотографии используемых приборов: слева - рН-метр PH-009(I), справа - кондуктометр карманный «HM Digital EC-3»

Параметры микроклимата контролировались цифровым термогигрометром Xiaomi Mijia Temperature and Humidity Sensor 2 (точность $\pm 0,3$ °C, $\pm 3\%$ RH) и автоматическим регулятором температуры (Рисунок 2.18).

Освещение обеспечивалось линейными светодиодными фитолампами полного спектра совместно с тёплыми люминесцентными лампами; управление световым режимом осуществлялось механическим таймером «Ust-m10 white» 220В, 12/24 ч (Рисунок 2.19). Поддерживались следующие условия: температура воздуха 22 ± 1 °C, температура питательного раствора 20 ± 2 °C, относительная влажность 60 ± 5 %, освещённость 4000–5000 лк, фотопериод 16/8 ч.



Рисунок 2.18 –
Цифровой
термогигрометр Xiaomi
Mijia Temperature and
Humidity Sensor 2



Рисунок 2.19 – Линейные светодиодные фитолампы
полного спектра в составе освещения гидропонной
установки (слева), автотаймер механический
(справа)

Регулярное тестирование и оптимизация процедуры необходимы для достижения максимальной эффективности и качества получаемых результатов [65]. Подробная методология с формами протоколов и примерами расчётов приведена в Приложении.

2.2. Методологические основы экспериментального подхода

Методология оценки фитотолерантности в гидропонной модельной среде базируется на трёх ключевых принципах, обоснованных в первой главе:

- *принцип единой контролируемой среды*, исключающей разность почвенных факторов и позволяющей фиксировать концентрацию свободных ионов с погрешностью не более 15 %;
- *принцип количественной оценки*, при которой мерой толерантности служит $LimP_H$ – аналог EC_{50} , дополненный пороговыми уровнями EC_{10} и EC_{90}) [64];
- *принцип экстраполяции гидропонных данных на почвенные условия через коэффициент пересчёта «k»*. Расчётные формулы для аппроксимации дозозависимых кривых (уравнение Хилла) и определения $LimP_H$, $LimP_S$ и «k» приведены в разделе 1.5 и здесь не дублируются; детальный вывод и обоснование каждого показателя представлены в приложении «Методологические рекомендации».

Разработанная пошаговая процедура гидропонного эксперимента включает следующие основные этапы:

1. *Подготовка растительного материала*. Включает калибровку, дезинфекцию (1 % $KMnO_4$, 20 мин) и проращивание семян тест-культур до появления корешков длиной 3–5 мм.

2. *Приготовление питательного раствора*. Используется авторский концентрат с микроэлементами в хелатной форме, обеспечивающий стабильность pH в диапазоне 6,5–8,0 при введении поллютантов.

3. *Настройка гидропонной установки* – задание режимов периодического затопления (15 мин затопления каждые 3 ч), поддержание температуры раствора

20–22 °С, освещённости 4000–6000 лк, фотопериода 16/8 ч, ежедневная корректировка pH до 6,5–7,2 и полная замена раствора каждые 48 ч.

4. *Моделирование загрязнения* – внесение поллютантов в питательный раствор на 7-е сутки после адаптации растений. Концентрационные ряды формируют в два этапа: широкий скрининговый ряд (охватывающий диапазон от безопасных до летальных концентраций) с последующим суженным точечным рядом в зоне предполагаемого предела толерантности для точного определения $LimP_H$. Использование гидропоники как аналитического инструмента позволяет изолированно изучать толерантность растений к различным загрязнителям, имитирующим промышленное загрязнение [63].

5. *Измерения и сбор данных*: морфометрические параметры (высота, длина корня, биомасса) фиксируют каждые 3 суток; визуальные признаки стресса (хлороз, некроз) регистрируют в протоколе. По окончании эксперимента определяют сырую и сухую биомассу, проводят химический анализ содержания поллютантов в тканях (ААС – для ТМ, ИК-спектрофотометрия и ГХ-МС – для углеводов, MBAS-метод – для ПАВ).

6. *Расчёт токсикометрических показателей* – $LimP_H$ (предел толерантности в гидропонике), коэффициентов биоаккумуляции (КБА) и транслокации (КТ), а также коэффициента пересчёта «k» для переноса данных в почвенные условия (на основе параллельных почвенных экспериментов).

7. *Статистическая обработка* – дисперсионный анализ (ANOVA) с вычислением наименьшей существенной разницы, регрессионный анализ для построения кривых «доза–отклик» и корреляционный анализ для оценки связи между гидропонными и почвенными значениями $LimP_H$.

8. *Загрузка данных в программный комплекс* – внесение полученных значений $LimP_H$, $LimP_s$, КБА, КТ и «k» в базу данных «PhytoRemediator» для автоматизированного подбора растений при планировании рекультивации или биоиндикационного мониторинга.

Детальное описание каждого этапа, включая требования к оборудованию, формы протоколов наблюдений, методы пробоподготовки и статистической

обработки, а также примеры расчётов, приведено в Приложении «Методологические рекомендации по внедрению результатов диссертационной работы». В настоящей главе представлены лишь ключевые параметры и последовательность действий, необходимые для воспроизведения эксперимента.

Все эксперименты проведены с трёхкратной биологической повторностью. Каждый вариант концентрации поллютанта тестировали на трёх независимых партиях растений для каждой комбинации «вид × концентрация».

2.3. Проведение экспериментов

Эксперимент состоял из пяти серий экспериментов с трехкратной биологической повторностью, выстроенных по принципу нарастания сложности и точности измерений. Начиная от первичной апробации питательной среды, заканчивая определением пороговых концентраций поллютантов для определения точечного предела фитотолерантности.

Каждая серия решала самостоятельную задачу и одновременно служила основой для следующей.

Значения ПДК ТМ в почве приняты согласно СанПиН 1.2.3685-21. Например, ПДК Hg^{2+} в почве составляет 2,1 мг/кг. Этот норматив установлен с учётом транслокационного показателя вредности, который характеризует переход вещества из почвы в растения. ОДК Cd – в зависимости от типа почвы от 0,5 до 2 мг/кг (в эксперименте принято 2 мг/кг), ПДК Ni^{2+} – 4 мг/кг, ПДК Zn^{2+} – 23 мг/кг. Значения в таблицах приняты в $\times$ ПДК для наглядного представления информации. При пересчете в гидропонной среде мы использовали те же концентрации, что и в почвенной.

2.3.1. Серия I. Оценка эффективности рабочего питательного раствора на хелатной основе

Целью первой серии экспериментов являлось подтверждение пригодности разработанного питательного раствора для длительного культивирования тест-культур и количественное сравнение его эффективности с коммерческим аналогом – стандартным раствором «*GHE Flora Series*» (*General Hydroponics*

Europe) с применением серии трехкомпонентного состава «*FloraGro/FloraMicro/FloraBloom*».



Рисунок 2.20 – Фотография гидропонных установок, на которых проводился вегетационный эксперимент

Эксперимент проводился по принципу параллельных установок (Рисунок 2.20). Установка 1 заполнялась разработанным хелатным раствором (концентрат 7,5 мл/л); установка 2 – коммерческим GHE по инструкции производителя (1 + 1 + 1 мл/л каждого компонента, итоговая электропроводность 2,0 мСм/см). Обе установки находились в одной климатической камере; питательные растворы готовились одновременно из единой партии дистиллированной воды. pH корректировался до $6,3 \pm 0,1$ для GHE и $6,2 \pm 0,1$ для разработанного раствора в соответствии с рекомендуемыми параметрами.

В качестве тест-культур использовались: *базилик, укроп, салат, кориандр, дайкон*. Семена высаживались в 6 минераловатных матов на каждую установку. Распределение посева следующее: дайкон – 190 (установка 1) и 190 семян (установка 2); томат – по 10 в каждой; кориандр – 164 и 164; салат – 510 и 510; укроп – 470 и 470; базилик – 2400 и 2400 семян. Различная плотность посева связана с размерами семян.

Длительность эксперимента – 51 сутки (28.03.2023 – 17.05.2023; завершение цикла 25.05.2023 для измерения биомассы). Морфометрические замеры проводились в двенадцати контрольных точках: 1, 3, 7, 10, 15, 18, 21, 23, 29, 35, 43, 51 сутки. Регистрировались максимальная и средняя высота надземной

части в каждом мате (см), число проросших семян для расчета всхожести, день появления первого и второго настоящих листьев. Параметры среды (*температура воздуха и раствора, относительная влажность, pH, EC*) фиксировались в те же дни. Биомасса (сырая и сухая масса надземной части и корней) определялась 25 мая 2023 г. для всех пяти культур.

2.3.2 Серия II. Определение пределов фитотолерантности ($LimP_H$) к Hg^{2+} , анионным ПАВ и высокомолекулярным углеводородам

Целью второй серии было изучение острой и хронической токсичности поллютантов разной природы: Hg^{2+} , как представителя ТМ I класса опасности, анионных ПАВ (алкилбензолсульфонаты) и высокомолекулярной углеводородной смеси в основе смазочного материала WD-40, как нефтепроизводного поллютанта [86].

В качестве тест-культур использованы четыре вида растений: *базилик, горчица, дайкон, клевер*.

Испытания производились на гидропонной установке фитильного типа (Рисунок 1), которая состояла из семи контейнеров, в каждом из которых по 4 минераловатных мата с 20 семенами каждого вида высшего растения.

Загрязнение проводилось в два этапа. Этап I (7-е сутки после рассадки) – однократное внесение поллютантов в начальных концентрациях; этап II (20-е сутки,) – повторное внесение в удвоенной концентрации. Распределение поллютантов по контейнерам приведено в Таблице 2.2.

Таблица 2.2 – Концентрации вносимых поллютантов в серии II

№ контейнера	Вид поллютанта	Концентрация поллютантов (на 7-й день), мг/л	Концентрация поллютантов (на 20-й день), мг/л
1	Эталон	0	0
2	Hg^{2+}	10,5	21
3	Hg^{2+}	210	420
4	углеводороды	0,5	1
5	углеводороды	2	4
6	ПАВ	0,5	1
7	ПАВ	2	4

Двухстадийное внесение поллютантов позволило разделить эффект острой токсичности (первые 13 суток после однократного внесения) от хронического воздействия при удлиненной экспозиции с возрастающей концентрацией.

В каждом контейнере одновременно выращивались все шесть видов растений – по одному в каждом кубике минеральной ваты. Один контейнер – одна концентрация данного поллютанта. Продолжительность наблюдения составляла 28–56 суток. На первых этапах вегетации фиксировались сроки появления хлороза, торможения роста и гибели растений при каждой концентрации. Это позволяло понять динамику токсического воздействия и задать диапазон для следующей серии. Замеры роста проводились со следующим интервалом – 1, 3, 6, 9, 13, 17, 21, 28, 38 сут. На рисунке 2.21 наглядно представлена гидропонная установка с контейнерами с экспериментальными растениями. Микроскопические препараты для дальнейшего осмотра на микроскопе брались на 10-е и 30-е сутки.

Для ионов Hg^{2+} готовился стандартный раствор хлорида ртути (HgCl_2) концентрацией 10,5; 21; 210 и 420 мг/л соответственно в подкисленной воде (рН 3,0). Аликвоты вносили в питательный раствор перед запуском насоса. ПАВ и WD-40 диспергировали в питательном растворе при интенсивном перемешивании на блендере (750 об/мин, 15 мин).



Рисунок 2.21 – Фотографии гидропонной установки с контейнерами с экспериментальными растениями (вид сверху (слева) и вид сбоку (справа))

После завершения серии вегетационного эксперимента (33 сут.) сухая биомасса растений после кислотной вытяжки направлена в Центр коллективного пользования РХТУ им. Д.И. Менделеева на определение содержания Hg^{2+} в биомассе методом ААС холодного пара, ПАВ – в дренажных растворах методом

MBAS (метилен-голубое связывание), остаточные углеводороды – методом ИК-Фурье спектроскопии. Дополнительно велись наблюдения за внешним видом и запахом дренажных растворов – индикаторами устойчивости среды.

2.3.3. Серия III. Определение предела фитотолерантности к воздействию ТМ (Cd^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+})

Третья серия экспериментов проводилась в два этапа с целью получения точных значений предела фитотолерантности LimP_H для каждой пары «вид × металл» в узком диапазоне концентраций с максимально возможной погрешностью не более $\pm 5\%$. Серия включала два последовательных этапа: 1 – широкий полиметаллический скрининг, 2 – точечное установление концентрационных рядов по определению LimP_H .

На первом этапе (широкие концентрационные ряды) использовали гидропонную установку периодического затопления, состоящую из восьми контейнеров (включая эталон); в каждом контейнере размещалось по 6 минераловатных матов с 20 семенами каждого из шести тест-культур: базилик, кресс-салат, щавель, горчица, мятлик, томат. Поллютанты (соли ТМ Cd^{2+} , Ni^{2+} и Zn^{2+}) вносились одновременно на 7-е сутки в концентрациях, указанных в Таблице 2.3.

Таблица 2.3 – Концентрации вносимых поллютантов в серии III (Этап 1)

№ контейнера		1	2	3	4	5	6	7	8
Вид поллютанта / Концентрация поллютанта, мг/л	Cd^{2+}	Эталон	2	10	20	60	100	200	400
	Ni^{2+}		4	20	40	120	200	400	800
	Zn^{2+}		23	115	230	690	1150	2300	4600

Второй этап проводили на тех же шести тест-культурах. Для каждого из ТМ (соли ТМ Cd^{2+} , Ni^{2+} и Zn^{2+}) использовали отдельные контейнеры – 16 контейнеров (Рисунок 2.22), что позволило исключить конкурентное взаимодействие между катионами и получить «чистые» дозозависимые кривые. Использованы суженные концентрационные ряды поллютантов, которые отображены в Таблице 2.4.

Таблица 2.4 – Концентрации вносимых загрязнителей в серии III (Этап 2)

№ контейнера		1	2	3	4	5	6	7	8
Вид загрязнителя / Концентрация загрязнителя, мг/л	Cd^{2+}	Эталон	10			20			40
	Ni^{2+}			20			40		
	Zn^{2+}				115			230	
№ контейнера		9	10	11	12	13	14	15	16
Вид загрязнителя / Концентрация загрязнителя, мг/л	Cd^{2+}			60			80		
	Ni^{2+}	80			120			160	
	Zn^{2+}		460			690			920

Определяли рост, биомассу, предел толерантности – $\text{Lim}P_H$ и коэффициент пересчёта «к» между гидропонной и почвенной средами.



Рисунок 2.22 – Контейнеры 2 этапа III серии с концентрацией полиметаллической смеси 10, 20, 30, 40 мг/л Cd^{2+}

Длительность каждой итерации составлял 33 суток с морфометрическими измерениями на 1, 4, 7, 10, 14, 18, 22, 26, 28, 33-е сутки; внесение загрязнителей производилось единовременно на 4-й день. Минимальное количество растений на одну точку – 18 (три биологические повторности $\times$ 6 семян на мат). По завершении 2 этапа эксперимента проводилась пробоподготовка материалов для дальнейшего определения содержания Cd^{2+} , Ni^{2+} и Zn^{2+} в надземной части и корнях растений из всех контейнеров методом ААС (см. п. 2.9). На основании аналитических данных рассчитывались также КТ и КБА для занесения информации в Базу данных программы «*PhytoRemediator*».

2.3.4. Серия IV. Определение предела фитотолерантности к воздействию ТМ (Cd^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+}) в почве для расчета коэффициента пересчета «к»

Серия IV проведена в почвенной среде с целью установления коэффициента пересчёта «к» между гидропонными и почвенными данными.

Использованы шесть тест-культур аналогично серии III эксперимента. Почвенные образцы использовались трёх типов: чернозём (рН 7,2), серая лесная (рН 6,6) и подзолистая почва (рН 5,5) – отобраны в соответствии с ГОСТ 17.4.4.02-2017. Для каждого типа почвы подготовлено по 36 горшков ёмкостью 1,5 л: 6 эталонных (по одному на каждый вид растения) и по 6 на каждую из пяти концентраций для каждого металла. Поллютанты вносились отдельно в каждый горшок в соответствии с концентрациями, использованными во втором этапе серии III эксперимента (Таблица 3). Эксперимент выполнен с трёхкратной биологической повторностью. Определяли рост, биомассу, предел толерантности – $LimP_s$.

В качестве модельной почвы выбран чернозем с рН 7,2, в котором содержание гумуса составляет 9,2%. Поллютанты вносились в почву единоразово в форме водного раствора солей ТМ с последующим тщательным перемешиванием субстрата для равномерного распределения поллютанта по объёму почвы, в соответствии с общими принципами пробоподготовки по Методическим указаниям ЦИНАО (1992 г.). После внесения раствора и перемешивания почва выдерживалась 7 суток для достижения равновесного распределения ионов ТМ, после чего проводилась высадка проросших семян.

В качестве тест-культур выбраны те же шесть видов, что и в основных сериях (*горчица, томат, кресс-салат, базилик, мятлик, щавель*).

Поллютанты (соли ТМ): нитрат кадмия $CdSO_4 \cdot 8H_2O$, сульфат цинка $ZnSO_4 \cdot 4H_2O$, сульфат никеля $NiSO_4 \cdot 7H_2O$. Добавление поллютантов проведено единоразово на 7-е сутки после рассадки (15 июля 2024 г.) в виде полиметаллической смеси $Cd + Zn + Ni$ в равных массовых долях. Концентрационный ряд аналогичен концентрационному ряду в этапе 2 серии III эксперимента (Рисунок 2.23).



Рисунок 2.23 – Горшки серии IV после внесения поллютантов (на 18 сутки)

Точные навески солей рассчитывались исходя из ПДК металлов в почве (ГН 2.1.7.2041-06): для Cd^{2+} ПДК = 2 мг/кг, для Ni^{2+} – 4 мг/кг, для Zn^{2+} – 23 мг/кг. Например, для уровня 10 ПДК Cd^{2+} (20 мг/л) навеска $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ составляла 0,026 г на 1 л раствора. Все навески взвешивались на аналитических весах «МЛ 0,2-1 В1Ж Ньютон ГЛС» (точность $\pm 0,0001$ г) и предварительно растворялись в 50 мл дистиллированной воды; полученные концентраты вводились в систему за 30 минут до основного цикла подачи.

Параметры среды поддерживались идентичными для всех трех систем: pH 6,5–7,2 (корректировка $\text{KOH}/\text{H}_2\text{SO}_4$), температура 22 ± 1 °C, ЕС 1,8–2,2 мСм/см. Влажность почвенных горшков поддерживалась на уровне 65% полевой влагоемкости (контроль гравиметрическим методом раз в трое суток). Замеры роста проводились каждые трое суток. Микроскопический анализ проводился на 10-е сутки. Длительность серии эксперимента составляла 33 дня. Содержание металлов в биомассе определялось по завершении эксперимента отдельно для надземной части и корней.

По итогам для каждой пары «вид × поллютант × тип почвы» рассчитывался коэффициент пересчета «k».

2.3.5. Серия V. Исследование влияния хелатора ЭДТА на изменение предела фитотолерантности

Изучены факторы, модулирующие фитотолерантность [61]. Эксперименты выполнены на гидропонной установке периодического затопления, состоящей из 16 контейнеров. Поллютанты вносились с концентрациями, соответствующими второму этапу серии III (Таблица 2.4). На рисунках 2.24-2.26 отображены две гидропонные установки с указанием концентраций по Cd^{2+} для вариантов с

добавлением ЭДТА и без него. В каждом контейнере размещалось по 6 минераловатных матов с 20 семенами каждого из шести тест-культур: *базилик*, *кресс-салат*, *щавель*, *горчица*, *мятлик*, *томат*. ЭДТА ($C_{10}H_{16}N_2O_8$) в концентрации 1 мМ вносили совместно с питательным раствором.

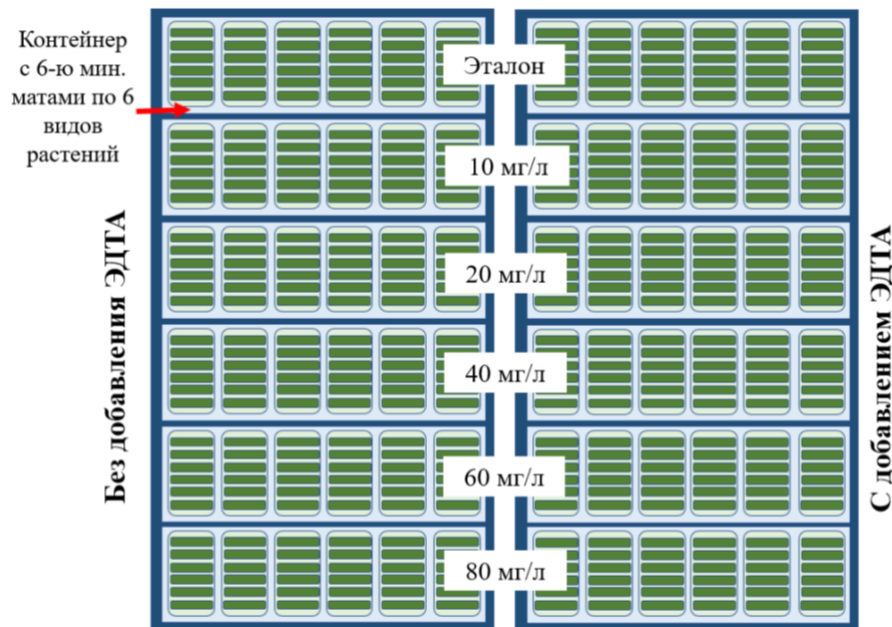


Рисунок 2.24 – Схема гидропонных установок при внесении поллютанта Cd^{2+}

ЭДТА выбрана в качестве хелатирующего агента исходя из высокой устойчивости комплексов с исследуемыми ТМ ($\log K = 16,5-8,6$). Известные ограничения ЭДТА (низкая биоразлагаемость в почве и риск дефицита Ca^{2+}/Mg^{2+} при концентрациях выше 2–3 мМ) учтены при выборе рабочей дозы 1 мМ, при которой указанные эффекты не проявляются. Na_2 -ЭДТА вносился в концентрации 1 мМ (0,372 г на 1 л) вместе с поллютантами на 7-е сутки.

Обоснование добавления ЭДТА строится на трёх независимых основаниях – химическом, практическом и методологическом.

1. Устойчивость комплексов с исследуемыми металлами. ЭДТА образует хелатные комплексы с Cd^{2+} , Ni^{2+} и Zn^{2+} с высокими константами устойчивости: $\log K = 16,5$; 8,6 и 16,5 соответственно. Это означает, что металл в присутствии ЭДТА остаётся в связанной форме, а не диссоциирует обратно в свободный ион при небольших колебаниях pH раствора, что критично для гидропонной среды, где раствор циркулирует и подвергается периодическим изменениям состава.

2. ЭДТА – «эталонный» и наиболее изученный хелатор. Среди альтернатив (лимонная кислота, НТА – нитрилотриуксусная кислота, ДТПА) именно ЭДТА является наиболее охарактеризованным агентом в мировой практике индуцированной фитоэкстракции [104].

Стандартная рабочая концентрация 1 мМ уже отработана в литературе как компромиссная доза – эффект хелатирования выражен отчётливо, но фитотоксичность самой ЭДТА (дефицит $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$, начинающийся при концентрациях выше 2–3 мМ) ещё не проявляется. Выбор этой концентрации снял необходимость проводить отдельную серию по подбору дозы ЭДТА.

3. Соответствие задаче исследования. Цель серии V – не подобрать «идеальный» хелатор, а показать принципиальную возможность управляемого смещения предела толерантности. ЭДТА для этой демонстрационной задачи оптимальна именно потому, что её поведение предсказуемо и хорошо документировано – любое отклонение от ожидаемого эффекта (как это и произошло с базиликом, где смещение оказалось отрицательным) можно уверенно интерпретировать как реальный физиологический эффект, а не как артефакт непредсказуемого поведения малоизученного реагента.

Единственный явный недостаток ЭДТА – низкая биоразлагаемость в почве (период полураспада 2–4 недели, в холодных и торфяных почвах – месяцы) и риск вторичной миграции металл-хелатных комплексов в грунтовые воды [103].



Рисунок 2.25 – Образец без добавления ЭДТА (на 18 сутки)



Рисунок 2.26 – Образец с добавлением ЭДТА (на 18 сутки)

2.4. Мониторинг и измерения

Ежедневный контроль раствора включал проверку pH, ЕС и температуры в трех точках накопительного резервуара. При отклонении pH более чем на 0,3 ед. от установленного значения проводилась корректировка 0,1N KOH или H₂SO₄. При снижении ЕС более чем на 0,2 мСм/см от исходного уровня (что свидетельствовало о потреблении солей растениями) производилось добавление соответствующего объема концентрата питательного раствора.

Визуальный осмотр растений проводился каждые трое суток с фотофиксацией.



Рисунок 2.27 – Регистрация роста наземной части растения с помощью линейки



Рисунок 2.28 – Образцы биомассы тест-культур в zip-пакетах, подготовленные к высушиванию при 60 °C до постоянной массы

Регистрировались высота надземной части (максимальная и средняя по мату), состояние листьев (тургор, окраска, наличие хлороза или некроза), состояние корневой системы (через прозрачные стенки контейнеров), внешние признаки токсического стресса (Рисунок 2.27).

Финальные измерения проводились в день завершения серии. Измерялись высота каждого растения; общая сырая масса надземной части и корней отдельно; сухая масса после высушивания при 60 °C до постоянной массы. Образцы биомассы упаковывались в zip-пакеты с указанием серии, контейнера, вида и даты, и хранились при –18 °C до проведения химического анализа (Рисунки 2.28, 2.29).



Рисунок 2.29 (а, б, в) – Подготовка образцов к взвешиванию: разделение на надземную часть и корневую систему (а), маркировка (б и в)

Микроскопические наблюдения за состоянием тканей проводились на оптическом микроскопе «Микромед 3 ЛЮМ» при увеличениях $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$ и $\times 1000$ (Рисунок 2.30).



Рисунок 2.30 – Проведение микроскопического исследования

Препараты готовились по стандартной методике временных давленных препаратов: тонкий поперечный срез корня или листа окрашивался 0,1% раствором перманганата калия для визуализации металлов либо 0,02% раствором метиленового синего для выявления повреждений клеточных стенок (Рисунок 2.31) [88]. Микроскопия проводилась на 10-е сутки в сериях II–IV для контроля субклеточных эффектов токсического воздействия.

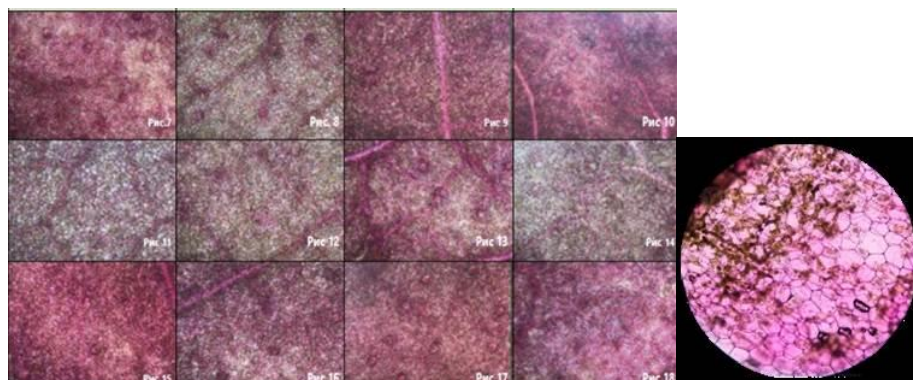


Рисунок 2.31 – Серия микропрепаратов листа базилика: визуализация (увеличение $\times 300$)

2.5. Аналитические методы исследования

Пробподготовка образцов биомассы. Высушенные образцы (надземная часть и корни – отдельно) измельчались в фарфоровой ступке. Навеска 0,5 г подвергалась мокрой минерализации: 5 мл 65% HNO_3 «ос.ч.», нагрев до $200\text{ }^\circ\text{C}$, выдержка 30 минут. Полученный раствор охлаждался, переносился в мерную колбу и доводился дистиллированной водой до 25 мл (Рисунок 2.32 – б) [89].



Рисунок 2.32 (а, б) – Пробподготовка растений на содержание ТМ с помощью ААС. а – кислотная вытяжка, б – готовый раствор с ТМ для передачи на анализ ААС

Подвижные кислоторастворимые формы металлов определены в вытяжках 1М раствор HNO_3 и 1М HCl . Пробу порошка растения массой 5 г взвешивают с точностью $\pm 0,1$ г и помещают в коническую колбу вместимостью 200–300 см³, к пробе добавляют 50 см³ 1М HNO_3 [90]. Взбалтывают суспензию на ротаторе в течение 1 ч или после 3-минутного встряхивания настаивают в течение суток (Рисунок 2.32 – а). Колбу закрывают пробкой (если резиновая, то ее необходимо завернуть полиэтиленовой пленкой). Вытяжку фильтруют через сухой складчатый фильтр «белая лента», предварительно промытый 1М HNO_3 . Перед фильтрованием вытяжка перемешивается и переносится на фильтр по

возможности полностью. В фильтрате определяют ТМ на атомно-абсорбционном спектрофотометре (ААС) в пламени ацетилен-воздух. Если фильтраты мутные, их возвращают на фильтры. Одновременно проводят холостой анализ, включая все стадии его определения, кроме взятия проб.

Определение ТМ проводилось на ААС «КВАНТ-2МТ» (Россия) с пламенной атомизацией (Рисунок 2.33). Аналитические длины волн следующие: Cd – 228,8 нм, Zn – 213,9 нм, Ni²⁺ – 232,0 нм.



Рисунок 2.33 – ААС *КВАНТ-2МТ* (Россия) с пламенной атомизацией

Калибровка прибора проводилась по стандартным растворам ГСО производства ВНИИМ им. Д.И. Менделеева. Предел обнаружения – 0,01 мг/л для Cd²⁺, 0,02 мг/л для Zn²⁺, 0,05 мг/л для Ni²⁺. Для каждого образца проводились три параллельных определения с расчетом среднего арифметического.

Определение ртути проводилось методом холодного пара на анализаторе РА-915М РП-91С при 253,7 нм. Предел обнаружения – 0,005 мг/л [91].

Определение ПАВ в растворах велось методом метилен-голубого связывания (МВАС) по ГОСТ Р 51211-98 с фотоколориметрированием при 650 нм; для остаточных углеводородов WD-40 применялся метод ИК-Фурье спектроскопии на приборе «*Shimadzu IRAffinity-1S*» с подтверждением методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии («*Shimadzu GCMS-QP2020 NX*»).

Значения ЕС₁₀, ЕС₅₀ и ЕС₉₀ интерполировались из аппроксимированных уравнением Хилла кривых «доза – отклик».

2.6. Статистическая обработка

Первичные данные морфометрических измерений и аналитических определений заносились в MS Excel 2022 с проверкой согласованности

дублирующих записей. Описательная статистика (среднее арифметическое, стандартное отклонение, коэффициент вариации) рассчитывалась для каждой биологической повторности [92].

Корреляционный анализ зависимости « $LimP_H - LimP_S$ » проводился по Пирсону с расчетом коэффициента корреляции « r » и уровня значимости « p »; коэффициент пересчета « k » для каждой пары «*вид × металл × тип почвы*» определялся как отношение средних значений

$$k = LimP_S / LimP_H [93].$$

Для каждого варианта опыта рассчитывался относительный показатель роста (ОПР, %) по формуле 2.2.:

$$ОПР (\%) = \frac{X_{опыт}}{X_{контроль}} \times 100\% \quad (2.2.)$$

В качестве основного показателя для расчета $LimP_H$ принималась сухая биомасса надземной части – как наиболее интегративный и наименее вариабельный параметр.

$LimP_H$ рассчитывалась нелинейной регрессией по четырехпараметрическому уравнению Хилла (4PL) 2.3. [94]:

$$Ингибирование = \frac{100 \cdot A^n}{LimP_H^n + A^n} \quad (2.3.)$$

Подбор параметров методом наименьших квадратов выполнялся в пакете Statistica 10.0 (модуль «*Nonlinear Estimation*»). Качество подбора: $R^2 \geq 0,95$. Доверительный интервал $LimP_H$ (95%) – при 100 итерациях.

Достоверность различий между вариантами – однофакторный ANOVA с тестом Тьюки ($\alpha = 0,05$); при попарных сравнениях – t-критерий Стьюдента [60].

Корреляционный анализ зависимости « $LimP_H - LimP_S$ » проводился по Пирсону с расчетом коэффициента корреляции r и уровня значимости p . Коэффициент пересчета k для каждой пары «*вид × металл × тип почвы*» определялся как отношение средних значений.

2.7. Выводы по Главе 2

В настоящей главе разработан и обоснован стандартизированный методологический подход к количественной оценке фитотолерантности, реализованный в пяти экспериментальных сериях. Основные результаты:

1. Разработана и описана методология гидропонного эксперимента, включающая три ключевых принципа: использование гидропоники как унифицированной модельной среды, числовая оценка толерантности через показатель предела фитотолерантности $LimP_H$, а также перенос результатов в полевые условия через коэффициент пересчёта «k».

2. Разработан и протестирован хелатный питательный гидропонный раствор (*патент RU2808836C1*), обеспечивающий химическую стабильность среды (рН 6,5–8,0) на протяжении всего эксперимента. Выбранный набор из шести тест-культур, относящихся к пяти семействам, охватывает таксономическое разнообразие и широкий диапазон фитотолерантности.

3. Введена двухступенчатая схема формирования концентрационных рядов: широкий скрининг с последующим точечным определением $LimP_H$ в локализованной зоне отклика (шаг $\times 5$ ПДК), что позволяет минимизировать погрешность при определении предела толерантности.

4. Определён комплекс аналитических методов для всех классов исследуемых поллютантов (ААС – для ТМ, ИК-спектрофотометрия и ГХ-МС – для углеводов, МВАС-метод – для ПАВ), обеспечивающий корректное определение их содержания в биомассе и питательном растворе.

5. Сформированный методологический комплекс служит основой для программного комплекса «PhytoRemediator».

ГЛАВА 3. АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ВЕГЕТАЦИОННЫХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ ПО ОЦЕНКЕ ФИТОТОЛЕРАНТНОСТИ

В настоящей главе представлены и проанализированы результаты пяти серий вегетационных экспериментов, выполненных в соответствии с разработанной методологией (Глава 2) в период с 28 марта 2023 г. по 10 мая 2025 г. Цель главы – на основе количественных данных морфометрии, биомассы и аналитического определения содержания поллютантов в тканях растений охарактеризовать фитореакцию восьми тест-культур на шесть классов загрязняющих веществ (Cd, Ni, Zn, Hg, анионные ПАВ, высокомолекулярные углеводороды), рассчитать пределы фитотолерантности в гидропонной среде $LimP_H$, установить корреляцию между гидропонными и почвенными значениями $LimP_S$ через коэффициент пересчёта «к», выявить перспективные виды-фиторемедианты и сформировать карту-справочник пороговых концентраций для практического применения при биологической рекультивации нарушенных земель и организации биоиндикационного мониторинга.

3.1. Результаты серии I

Динамика роста шести культур фиксировалась в девяти контрольных точках на протяжении 51 суток в двух параллельных установках: с разработанным хелатным раствором (установка 2) и коммерческим GHE Flora Series (установка 1). Сводные данные по максимальной высоте надземной части приведены в Таблице 3.1.

Таблица 3.1 – Показатели роста тест-культур в разработанном растворе и в GHE Flora Series на 31 сутки

Тест-культура	дайкон	томат	кориандр	кресс-салат	укроп	базилик
ГНА	25	14	14	10	13	15
Эксп. р-р	25	19	15	14	14	21

Анализ кривых роста выявил три различных типа динамики. Дайкон проявил самый быстрый старт: к 7-м суткам высота уже достигла 13,5 см (экспериментальный состав) и 14,0 см (GHE), к 21-м суткам – 23,0 и 24,0 см соответственно, после чего рост вышел на плато. Томат, кресс-салат и базилик

показали медленную фазу прорастания и пологое нарастание высоты с выходом на плато к 38–46-м суткам. Кориандр и укроп заняли промежуточное положение с активной фазой роста между 7-ми и 18-ми сутками.

В первые 7 суток различия между растворами статистически незначимы ($p > 0,05$): на этом этапе развитие проростков идет за счет запасных веществ семени, и качество питательной среды не сказывается на росте. Различия проявляются после 15-х суток. К 51-м суткам кресс-салат (Рисунок 3.4) в разработанном растворе достиг 17,5 см против 13,5 см в GHE (+30%), томат (Рисунок 3.2) – 21,0 см против 16,0 см (+31%), базилик (Рисунок 3.6) – 15,0 см против 12,5 см (+20%). Дайкон (Рисунок 3.1) и кориандр (Рисунок 3.3) показали практически одинаковые значения в обеих установках; укроп (Рисунок 3.5) – преимущество разработанного раствора (+17%).



Рисунок 3.1 – Сравнение графиков роста дайкона в экспериментальном растворе (зеленый) и в коммерческом растворе GHE (голубой)



Рисунок 3.2 – Сравнение графиков роста томата в экспериментальном растворе (зеленый) и в коммерческом растворе GHE (голубой)



Рисунок 3.3 – Сравнение графиков роста кориандра в экспериментальном растворе (зеленый) и в коммерческом растворе GHE (голубой)

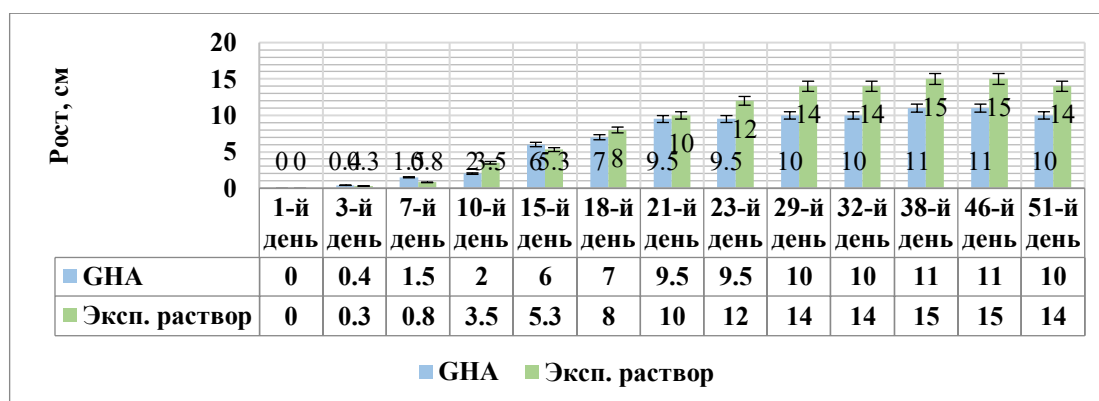


Рисунок 3.4 – Сравнение графиков роста салата в экспериментальном растворе (зеленый) и в коммерческом растворе GHE (голубой)



Рисунок 3.5 – Сравнение графиков роста укропа в экспериментальном растворе (зеленый) и в коммерческом растворе GHE (голубой)



Рисунок 3.6 – Сравнение графиков роста базилика в экспериментальном растворе (зеленый) и в коммерческом растворе GHE (голубой)

Окончательное взвешивание биомассы пяти культур (томат исключен ввиду незавершенного вегетационного цикла) проведено 25 мая 2023 г. Сводные значения представлены на рисунке 3.7.

В пересчете на одно растение:

- сырая масса дайкона составила $21,2 \pm 0,02$ г против $14,9 \pm 0,015$ г (+42%);
- сухая масса надземной части дайкона – $0,96 \pm 0,018$ г против $0,67 \pm 0,012$ г (+43%);

- сухая масса корневой системы дайкона – $0,17 \pm 0,008$ г против $0,06 \pm 0,01$ г (+183%);
- сырая масса базилика – $8,2 \pm 0,07$ г против $6,9 \pm 0,011$ г (+19%);
- сухая масса базилика – $0,46 \pm 0,011$ г против $0,32 \pm 0,010$ г (+44%).

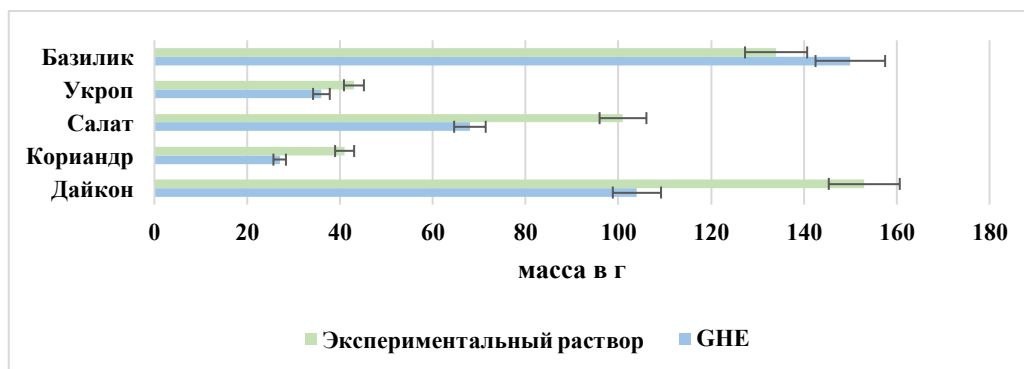


Рисунок 3.7 – Диаграмма показателей биомассы растений (без корневой части) по окончании эксперимента

Разработанный питательный раствор превзошел GHE по биомассе базилика на 19%, дайкона – на 42% (данные прямого сравнительного опыта) [54].

Резкое преимущество разработанного раствора по сухой массе корней дайкона (+183%) объясняется большей доступностью железа и марганца, лимитирующих развитие корневой системы у дайкона. В коммерческом GHE при $pH > 6,5$ железо начинает выпадать в осадок в форме $Fe(OH)_3$, и его биодоступность падает; в разработанном составе хелатированное $Fe(EDTA)^-$ остается в растворе во всем рабочем диапазоне pH . Тот же фактор, по-видимому, лежит в основе существенно большего прироста биомассы кориандра (+52%), кресс-салата (+49%) и дайкона (+47%). Базилик единственным показал несущественно меньшую биомассу в разработанном растворе по итоговой первой партии (на 11%), однако во второй партии биомасса в разработанном растворе оказалась выше на 19%, что в пределах вариации внутри партии.

Контроль pH и ЕС проводился в каждый из девяти дней замеров. Динамика параметров приведена на Рисунках 3.8, 3.9.

pH обоих растворов оставался стабильным в диапазоне 6,1–7,5 на протяжении всего опыта: разработанный раствор показал отклонение не более $\pm 0,4$ ед., тогда как GHE – до 0,5 ед. при введении ионов ТМ (Рисунок 3.9).

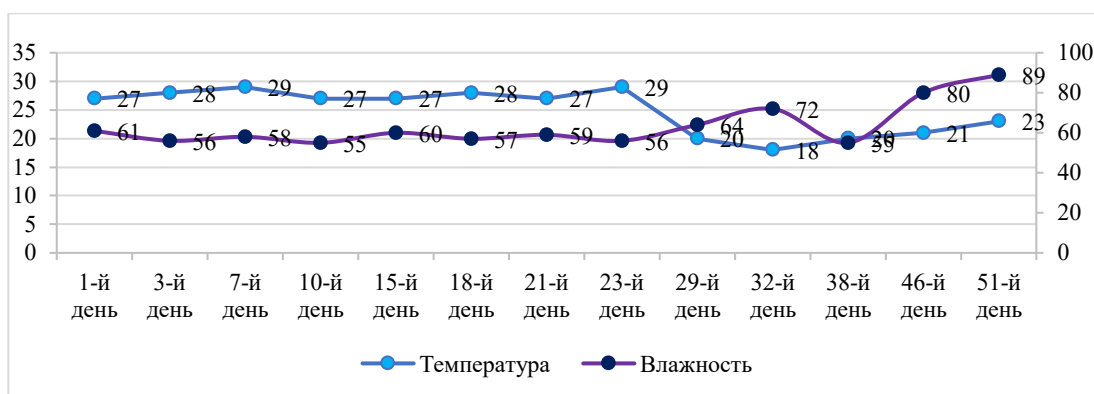


Рисунок 3.8 – Показатели влажности и температуры на протяжении эксперимента

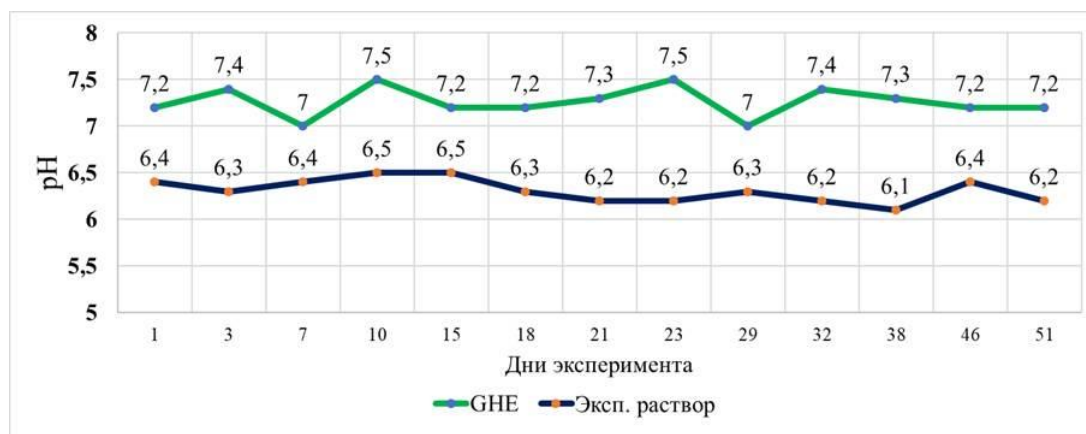


Рисунок 3.9 – Показатели pH-гидропонного раствора

pH в установке с разработанным раствором поддерживался в узком диапазоне 6,1–6,5 ($\Delta = 0,4$ ед.); в установке GHE – 7,0–7,5 ($\Delta = 0,5$ ед.) (Рисунок 3.9). При этом в более длительной серии измерений (до 51 суток) для GHE отклонение достигало 0,8–1,2 ед., тогда как для разработанного раствора отклонение оставалось в пределах 0,2 ед. – это и есть ключевое преимущество хелатной формы микроэлементов для длительных токсикологических экспериментов. Электропроводность нарастала линейно в обеих установках: 0,2 → 1,95 мСм/см (наш) и 0,3 → 2,14 мСм/см (GHE), что отражает потребление солей растениями. А показатели температуры и влажности экспериментальной камеры отображены на рисунке 3.8. В ней мы наблюдаем, что в лаборатории старались поддерживать единую климатическую константу.

Таким образом, разработанный питательный раствор обеспечивает развитие тест-культур на уровне, не уступающем коммерческому GHE Flora Series, и превосходит его по биомассе кориандра (+51%), кресс-салата (+49%) и

дайкона (+47%). Ключевое преимущество – стабильность pH в диапазоне $\pm 0,4$ ед. на протяжении всего эксперимента, что подтверждает пригодность раствора для длительных токсикологических экспериментов с внесением солей ТМ.

3.2. Результаты серии II

Анализ результатов реакции растений на соль Hg^{2+}

Двухстадийное внесение HgCl_2 с концентрациями 10,5; 21; 210; 420 мг/л Hg^{2+} выявило резко различающуюся чувствительность четырех тест-культур: дайкона, клевера, горчицы и базилика.

Базилик и клевер показали наибольшую чувствительность к Hg^{2+} . При концентрации 21 мг/л (Рисунок 3.11) отклонение от контроля составило –44% по высоте уже на 9-е сутки; при 210 мг/л – (Рисунок 3.12) массовая гибель растений в течение 5–7 суток после внесения с явными признаками острого мембранного поражения: некроз листовых пластинок, потеря тургора, бурая окраска корней. Микроскопический анализ корневых клеток базилика на 10-е сутки выявил разрушение клеточных стенок коры корня и плазмолиз центрального цилиндра.

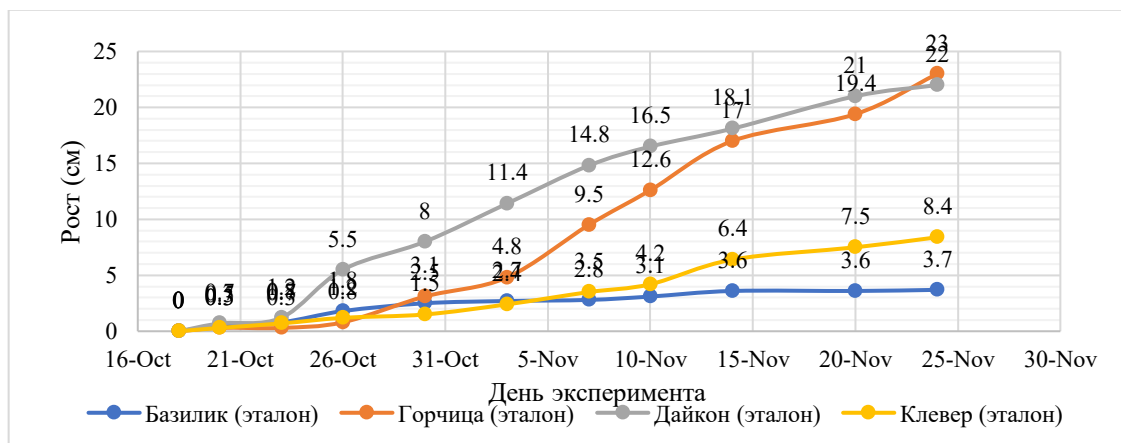


Рисунок 3.10 - Сравнение графиков роста растений в эталонной среде

Показатели роста в эталонной среде отображен на рисунке 3.10. Здесь мы с вами наблюдаем идеальную картину роста растений без добавления загрязнителей. Во всех значениях указано усредненное значение роста в см., так как эксперимент проводился в трехкратной повторности. Погрешность при этом составила не более 6-ти %.

Дайкон и горчица сарептская проявили существенно большую толерантность. При 10,5 мг/л Hg^{2+} угнетение роста составило 15–20% от контроля (Рисунок 3.11), при 210 мг/л растения сохранили жизнеспособность с выраженным хлорозом листьев, при 420 мг/л (после второго внесения) угнетение составило 45–50% без массовой гибели. Содержание Hg^{2+} в биомассе горчицы при 210 мг/л достигло $18,4 \pm 0,9$ мг/кг сухой массы (КБА = 1,84) – уровень, превышающий естественное содержание ртути в растениях в десятки раз. Это позволяет рекомендовать горчицу как ведущий вид-фиторемедиант для ртутного загрязнения [95].

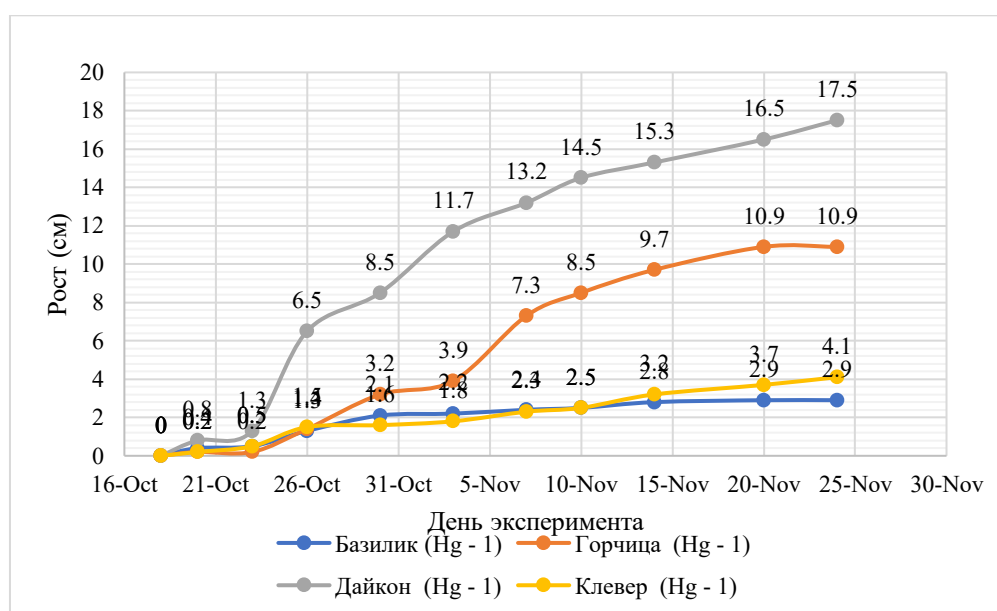


Рисунок 3.11 – Показатели роста растений в растворе с загрязнителем Hg^{2+} (концентрация 10,5 мг/л до 15 ноября, далее 21 мг/л)

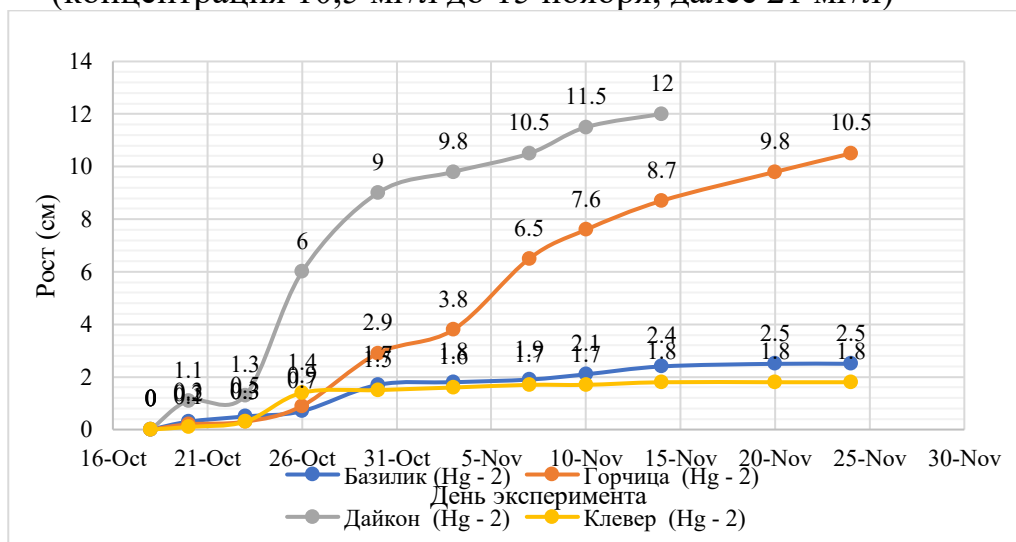


Рисунок 3.12 – Показатели роста растений в растворе с загрязнителем Hg^{2+} (концентрация 210 мг/л до 15 ноября, далее 420 мг/л)

Клевер занял промежуточное положение: предел толерантности $LimP_H$ по Hg^{2+} – около 21 мг/л, полная гибель – при 105 мг/л.

На основании полученных данных получена зависимость «концентрация – эффект» (Рисунок 3.13) для базилика при воздействии ионов Hg^{2+} . Установлено, что при концентрации 21 мг/л гибель растений составила 20 %, а при 42 мг/л достигла 50 %. Таким образом, искомая эффективная концентрация $LimP_H$, соответствующая 50%-му летальному исходу, находится в интервале от 21 до 42 мг/л; по результатам аппроксимации её значение оценено как $31,5 \pm 10,5$ мг/л. Данные результаты лежат в основе данных по пределам фитотолерантности в Таблице 3.2.

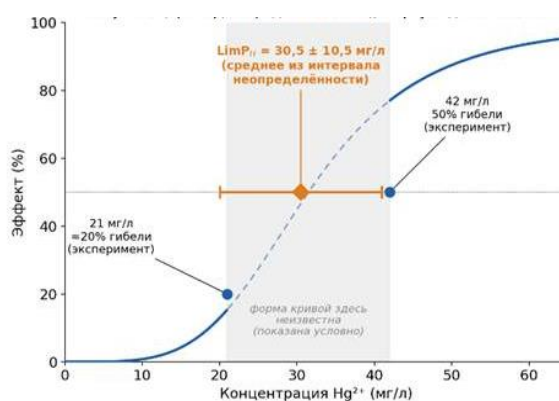


Рисунок 3.13 – График «Концентрация-эффект» для Базилика по Hg^{2+}

Таблица 3.2 – Предел фитотолерантности тест-культур в серии II

Поллютант	базилик	клевер	горчица	дайкон
Hg^{2+} , мг/л	$31,5 \pm 10,5$	$31,5 \pm 10,5$	$31,5 \pm 10,5$	315 ± 105
ПАВ, мг/л	$1,5 \pm 0,5$	3 ± 1	$1,5 \pm 0,5$	3 ± 1
WD-40, мг/л	$1,5 \pm 0,5$	$0,75 \pm 0,25$	$1,5 \pm 0,5$	$0,75 \pm 0,25$

Анализ результатов реакции растений на анионные ПАВ

(алкилбензолсульфонаты) и смесь высокомолекулярных углеводов

ПАВ (алкилбензолсульфонаты) проявили выраженный мембранный механизм токсичности. При 0,5 мл/л у всех видов отмечалось замедление роста на 10–15% без видимых внешних эффектов. При 1 мл/л (Рисунок 3.15) появились признаки нарушения водного режима: потеря тургора, скручивание листьев, начальный хлороз. При 2 мл/л (Рисунок 3.16) произошла массовая гибель

базилика и клевера за 5–7 суток, дайкон и горчица сохранили вегетацию с угнетением 40–55%. При 4 мл/л (после повторного внесения) рост прекратился у всех видов; за 38 суток гибель не зафиксирована, но растения находились в состоянии хронического стресса. Микроскопический анализ выявил разрушение мембран в клетках листовых пластин базилика уже при 1 мл/л (Рисунок 3.14).

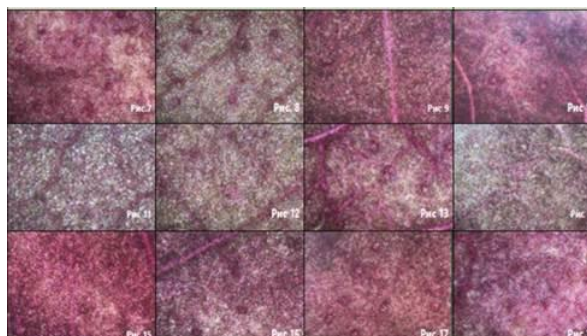


Рисунок 3.14 – Микроскопический обзор на мембраны клеток листовых пластин базилика при 1 мл/л ПАВ

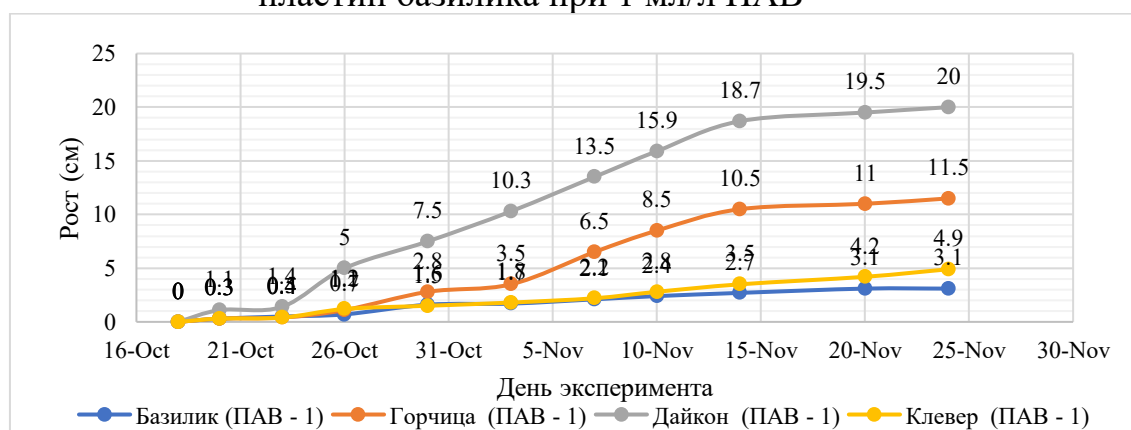


Рисунок 3.15 – Показатели роста растений в растворе при добавлении ПАВ в концентрации 0,5 мл/л, а с 15 ноября – 1 мл/л

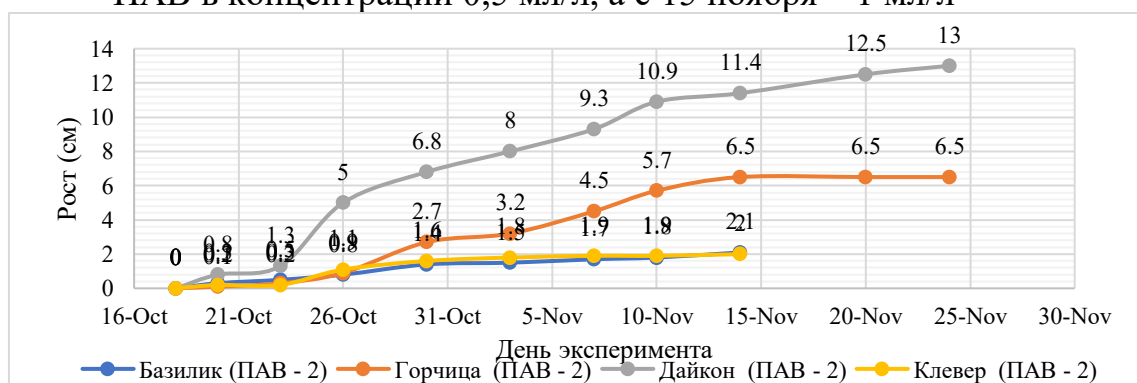


Рисунок 3.16 – Показатели роста растений в растворе при добавлении ПАВ в концентрации 2 мл/л, а с 15 ноября – 4 мл/л

Высокомолекулярные углеводороды определялись методом ИК-Фурье спектроскопии (Рисунок 3.20) с подтверждением методом ГХ-МС. В отличие от ПАВ, углеводороды показали принципиально иной характер действия. При 0,5–1 мл/л (Рисунок 3.17) зафиксирован стимулирующий эффект (горметизис): прирост высоты составил 10–18% относительно контроля. На 9-е сутки в эталонной установке высота базилика составила 1,8 см, в установке с 1 мл/л углеводородов – 2,1 см. Стимулирующее действие низких концентраций согласуется с эффектом гидрофобной плёнки на поверхности корней, снижающей потери воды. При 2 мл/л эффект становился нейтральным (Рисунок 3.18, 3.19); при 4 мл/л проявилось угнетение роста на 40–60% относительно контроля; также зафиксирована гибель 50% растений [87].

По аналогии с расчетом предела толерантности $LimP_H$ по графику на рисунке 3.13 были определены пределы фитотолерантности к ПАВ и к углеводородам. Данные также представлены в Таблице 3.2.

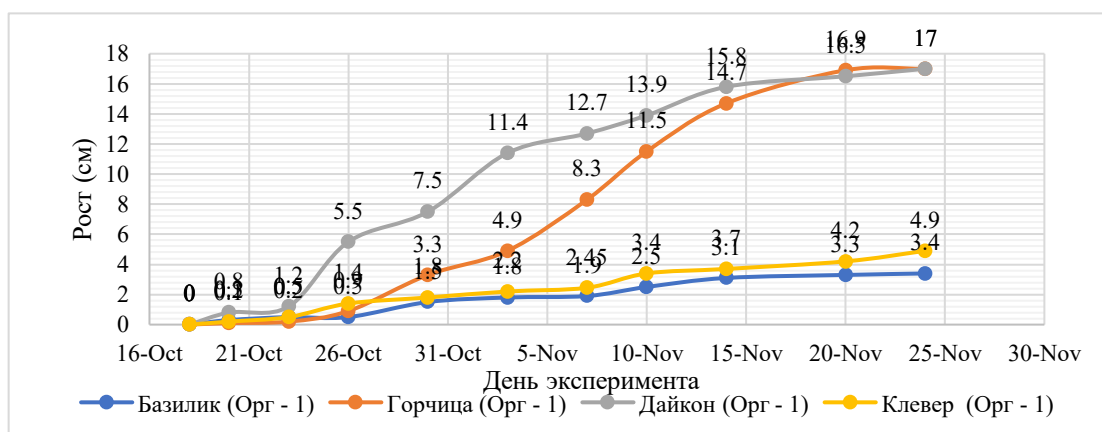


Рисунок 3.17 – Показатели роста растений в растворе при добавлении УВ в концентрации 0,5 мл/л, а с 15 ноября – 1 мл/л

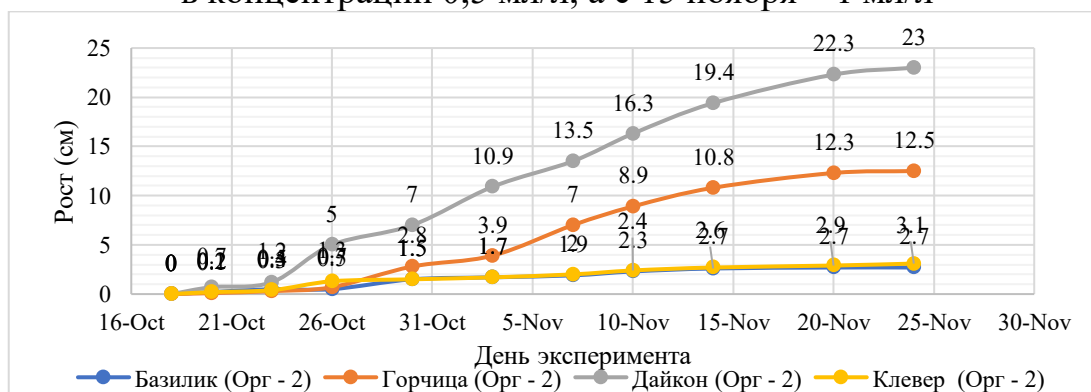


Рисунок 3.18 – Показатели роста растений в растворе при добавлении УВ в концентрации 2 мл/л, а с 15 ноября – 4 мл/л

Наиболее токсичным для базилика и клевера поллютантом серии II оказалась ртуть ($LimP_H = 21$ мг/л); для горчицы наибольшую опасность представляют ПАВ ($LimP_H = 2,4$ мг/л); дайкон проявил наивысшую устойчивость к Hg^{2+} ($LimP_H = 210$ мг/л) при умеренной чувствительности к ПАВ.



Рисунок 3.19 – Контейнер на 14-е сутки при концентрации УВ 2 мл/л



Рисунок 3.20 – Инфракрасный Фурье-спектрометр «Shimadzu IR Affinity-1S»

На рисунке 3.21 также представлен график показателя биомассы после проведения эксперимента, где все значения сравнивались с эталонным исходя из которой можно сделать вывод, что наиболее толерантными к воздействию поллютантов являются Дайкон и горчица.

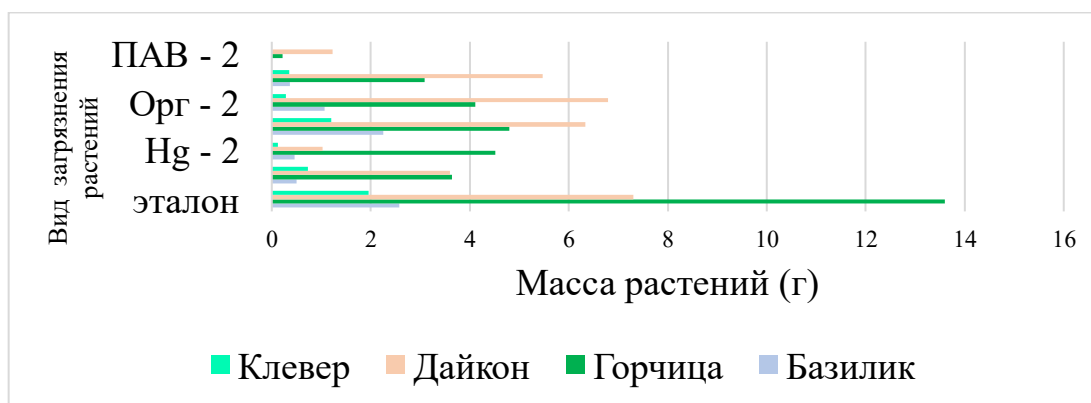


Рисунок 3.21 – Показатели биомассы растений в контейнерах с различными поллютантами

3.3. Результаты серии III

В Серии III по результатам серии первого этапа по аналогии с серией II определены концентрационные ряды толерантности растений к полиметаллическому загрязнению. Итоговые результаты приведены в Таблице 3.3. Погрешность определения концентраций предела толерантности составляла до 23%.

Таблица 3.3 – Предел фитотолерантности в широком концентрационном ряду

Вид растения	Cd^{2+} , мг/л	Ni^{2+} , мг/л	Zn^{2+} , мг/л
кресс-салат	40 ± 20	80 ± 40	460 ± 230
горчица сарпетская	40 ± 20	80 ± 40	460 ± 230
мятлик луговой	15 ± 5	30 ± 10	$172,5 \pm 57,5$
щавель	15 ± 5	30 ± 10	$172,5 \pm 57,5$
томат	15 ± 5	30 ± 10	$172,5 \pm 57,5$
базилик	40 ± 20	80 ± 40	460 ± 230

3.3.1. Результаты первого этапа серии III

По результатам первого этапа серии III определены широкие диапазоны концентраций Cd^{2+} , Ni^{2+} и Zn^{2+} , в пределах которых происходит переход от сохранения жизнеспособности к достижению предела толерантности каждого из шести тест-культур. Динамика роста в широком концентрационном ряду показана в Рисунках 3.22-3.27.

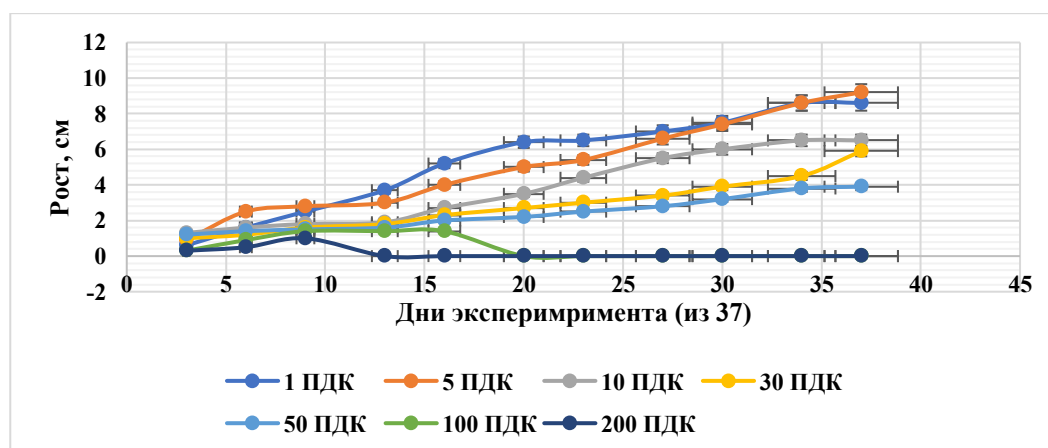


Рисунок 3.22 – График роста щавеля при различных концентрациях ТМ

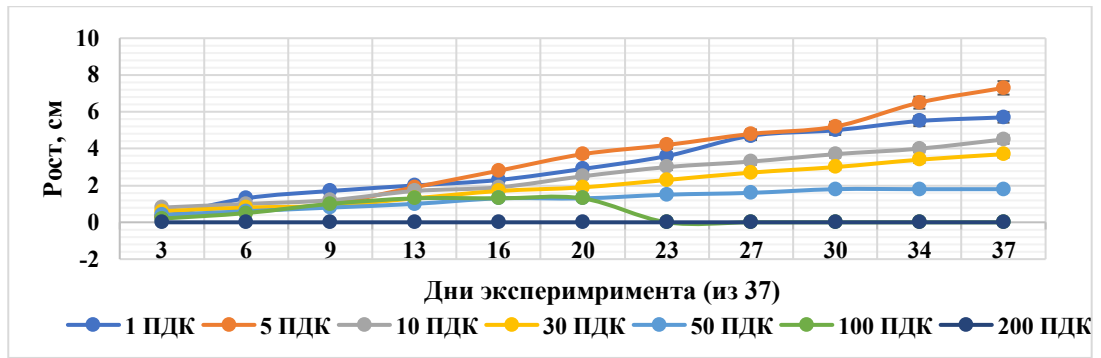


Рисунок 3.23 – График роста базилика при различных концентрациях ТМ

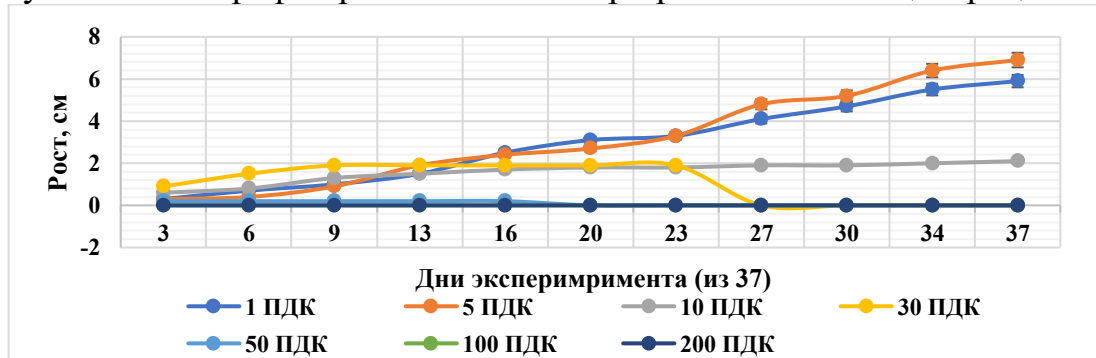


Рисунок 3.24 – График роста мятлика при различных концентрациях ТМ

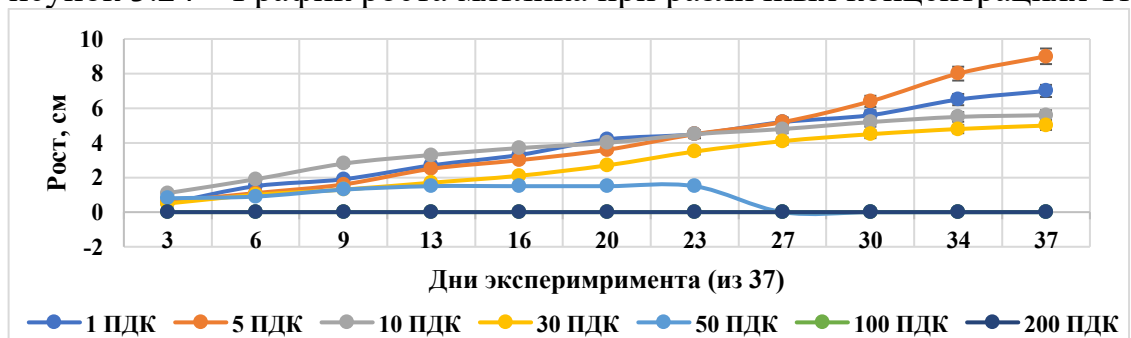


Рисунок 3.25 – График роста кресс-салата при различных концентрациях ТМ

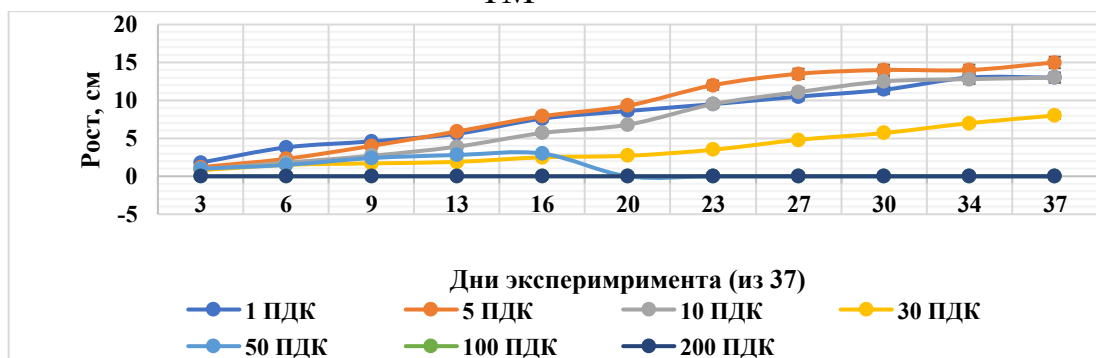


Рисунок 3.26 – График роста горчицы при различных концентрациях ТМ

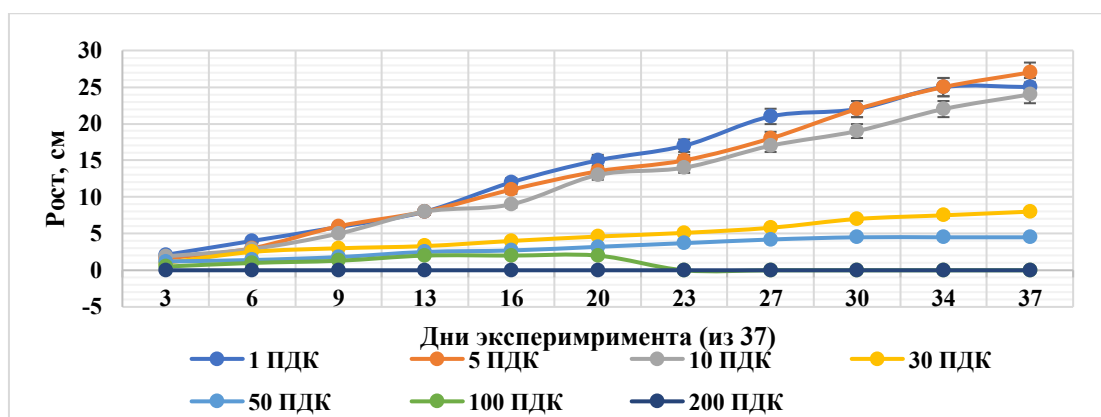


Рисунок 3.27 – График роста томата при различных концентрациях ТМ

Разделение шести тест-культур на две группы устойчивости прослеживается уже на этом этапе (Таблица 3.3): кресс-салат, горчица сарептская и базилик демонстрируют более высокий диапазон (20–60 мг/л по Cd^{2+}), тогда как мятлик луговой, щавель и томат – вдвое более узкий и смещённый в область меньших концентраций диапазон (10–20 мг/л по Cd^{2+}).

3.3.2. Результаты второго этапа серии III

На втором этапе при тестировании каждого ТМ отдельно в узком, локализованном по результатам первого этапа диапазоне концентраций определены точечные значения предела толерантности $\text{Lim}P_H$ для каждой пары «вид растения – металл».

Определение $\text{Lim}P_H$ методом аппроксимации уравнением Хилла:

Точное значение $\text{Lim}P_H$ в узком концентрационном ряде рассчитывается не по единственной точке, совпадающей с эффектом 50%, а путём аппроксимации всего массива экспериментальных точек «доза–эффект» уравнением Хилла [96]:

$$E(C) = \frac{E_{\max} \times C^n}{\text{Lim}P_H^n + C^n} \quad (3.1)$$

где $E(C)$ – эффект (%) при концентрации C ; $E_{\max}$ – максимальный достижимый эффект (100%, полная гибель); n – коэффициент Хилла, характеризующий крутизну перехода кривой; $\text{Lim}P_H$ – искомый предел толерантности.

Рассмотрим решение уравнения (3.1) на примере горчицы сарептской по Cd^{2+} . В узком ряду были испытаны четыре концентрации с зарегистрированным эффектом (таблица 3.4).

Таблица 3.4 – Экспериментальные данные «доза–эффект» для горчицы сарептской по Cd^{2+} (этап 2 серии III)

Концентрация Cd^{2+} , мг/л	Эффект, %
20	15
40	35
60	50
80	68

Уравнение (3.1) приводится к линейному виду логит-преобразованием:

$$\ln \frac{E}{100-E} = n \times \ln(C) - n \times \ln(\text{Lim}P_H) \quad (3.2)$$

Обозначим $y = \ln \frac{E}{100-E}$ и $x = \ln(C)$. Рассчитаем эти величины для каждой экспериментальной точки по уравнению 3.2:

- при $C=20$, $E = 15$: $y = \ln(15/85) = \ln(0,176) = -1,734$; $x = \ln(20) = 2,996$;
- при $C=40$, $E = 35$: $y = \ln(35/65) = \ln(0,538) = -0,619$; $x = \ln(40) = 3,689$;
- при $C = 60$, $E = 50$: $y = \ln(50/50) = \ln(1) = 0$; $x = \ln(60) = 4,094$;
- при $C = 80$, $E = 68$: $y = \ln(68/32) = \ln(2,125) = 0,754$; $x = \ln(80) = 4,382$.

По уравнению (3.2) точка $(x, y) = (0; 0)$ при $C = 60$ мг/л уже прямо указывает на то, что $\text{Lim}P_H$ находится в окрестности 60 мг/л (поскольку $y = 0$ наблюдается точно тогда, когда $C = \text{Lim}P_H$, – это прямое следствие того, что при $C = \text{Lim}P_H$ отношение $E/(100-E) = 50/50 = 1$, а $\ln(1) = 0$). Коэффициент n определяется как угловой коэффициент (наклон) линейной зависимости y от x методом наименьших квадратов по четырём точкам:

$$n = (y_4 - y_1)/(x_4 - x_1) = (0,754 - (-1,734))/(4,382 - 2,996) = 2,488 / 1,386 \approx 1,8$$

Подставляя найденные $n = 1,8$ и $\text{Lim}P_H = 60$ мг/л обратно в исходное уравнение (3.1), получаем расчётную кривую:

$$E(C) = 100 \times C^{1,8} / (60^{1,8} + C^{1,8})$$

Проверка адекватности модели: при $C = 20$ мг/л расчётный эффект составляет 12,2% (наблюдалось 15%); при $C = 40$ мг/л – 32,6% (наблюдалось 35%); при $C = 80$ мг/л – 62,8% (наблюдалось 68%). Расхождение расчётных и наблюдаемых значений не превышает 5,5 процентных пункта, что подтверждает адекватность аппроксимации. Графически данное решение показано на рисунке 3.28: сплошная линия – аппроксимирующая кривая уравнения Хилла, точки – экспериментальные данные, вертикальная пунктирная линия – искомое значение $LimP_H = 60$ мг/л на пересечении с горизонталью 50%-го эффекта.

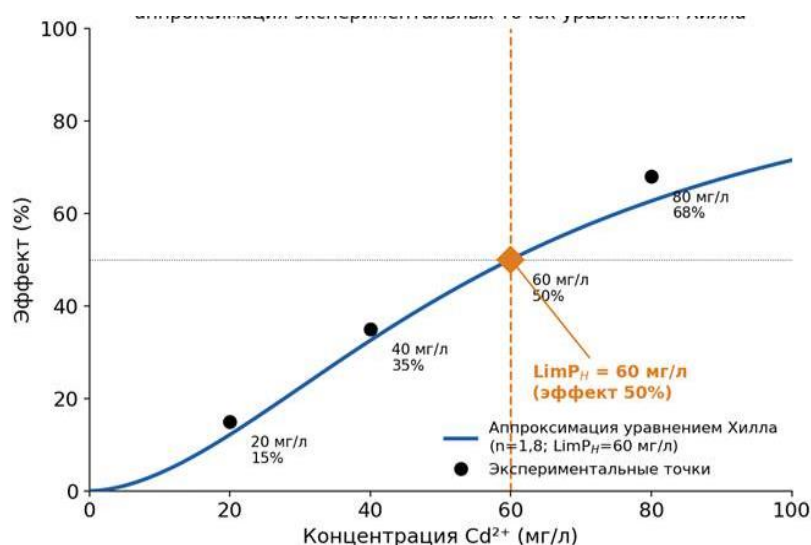


Рисунок 3.28 – Определение $LimP_H$ по Cd^{2+} для горчицы сарептской методом аппроксимации уравнением Хилла (серия III, этап 2)

Аналогичная процедура выполнена для каждой из 18 комбинаций «вид × металл» серии III. Коэффициент Хилла n во всех аппроксимациях составил 1,6–3,4, что соответствует кооперативному характеру токсического отклика ($n > 1$: чем выше n , тем круче переход кривой вблизи $LimP_H$, что указывает на резкое включение защитных систем детоксикации при приближении к пороговой концентрации). Коэффициент детерминации R^2 в 18 кривых – не менее 0,95.

Итоговые значения $LimP_H$ для всех шести видов по трём металлам показана в таблице 3.5.

Таблица 3.5 – Предел фитотолерантности в суженном концентрационном ряде

Вид растения	Cd ²⁺ , мг/л	Ni ²⁺ , мг/л	Zn ²⁺ , мг/л
кресс-салат	40	80	460
горчица сарептская	60	40	690
мятлик луговой	20	20	115
щавель	20	40	230
томат	20	20	230
базилик	40	80	460

По результатам серии III установлена иерархия фитотолерантности от наибольшей к наименьшей: горчица сарептская > кресс-салат ≈ базилик > щавель > мятлик луговой ≈ томат (таблица 3.4). Горчица сарептская – лидер по устойчивости к Cd²⁺ ($LimP_H = 60$ мг/л) и Zn²⁺ ($LimP_H = 690$ мг/л); по Ni²⁺ наибольшую устойчивость проявил кресс-салат и базилик ($LimP_H = 80$ мг/л). Мятлик луговой – наименее толерантный вид по совокупности трёх металлов.

3.4. Серия IV. Определение предела толерантности в почвенной среде и расчет коэффициента пересчета «к»

В Серии IV по результатам роста и взвешивания биомассы растений в почвенной среде получены следующие результаты предела фитотолерантности, отраженные в Таблице 3.6.

Таблица 3.6 – Предел толерантности в почвенной среде, $LimP_s$ (мг/кг)

Почва	pH 5,5			pH 6,6			pH 7,2		
Вид растения	Cd ²⁺ (мг/кг)	Ni ²⁺ (мг/кг)	Zn ²⁺ (мг/кг)	Cd ²⁺ (мг/кг)	Ni ²⁺ (мг/кг)	Zn ²⁺ (мг/кг)	Cd ²⁺ (мг/кг)	Ni ²⁺ (мг/кг)	Zn ²⁺ (мг/кг)
кресс-салат	60	120	690	60	80	690	80	80	690
горчица сарептская	80	80	460	80	120	460	80	120	690
мятлик луговой	40	40	115	60	80	115	60	80	115
щавель	20	80	460	20	80	460	20	80	460
томат	40	80	460	60	80	690	60	120	690
базилик	60	120	460	60	160	690	80	120	460

Сопоставление таблицы 3.5 с гидропонными значениями $LimP_H$ (таблица 3.4) показывает, что во всех без исключения комбинациях «вид – металл – тип почвы» почвенное значение предела толерантности превышает или равно гидропонному. Это согласуется с эффектом частичной иммобилизации ТМ

почвенным матриксом (сорбция на глинистых минералах и органическом веществе), снижающей фактическую биодоступность поллютанта по сравнению с гидропонной средой, где металл присутствует полностью в свободной ионной форме [97]. Прослеживается зависимость $LimP_s$ от pH почвы. Для большинства видов и ТМ значение возрастает при переходе от кислой подзолистой почвы (pH 5,5) к нейтральному чернозёму (pH 7,2). Например, для горчицы сарептской $LimP_H$ по Zn^{2+} увеличивается с 460 мг/кг при pH 5,5–6,6 до 690 мг/кг при pH 7,2.

На рисунках 3.29-3.34 показан рост каждой тест-культуры при концентрации Cd^{2+} (20 мг/л), Ni^{2+} (40 мг/л), Zn^{2+} (230 мг/л) (оранжевым – в гидропонике, зеленым – в почве).

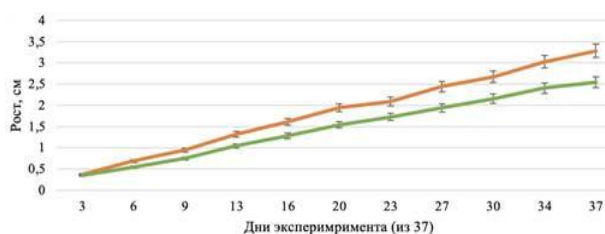


Рисунок 3.29 – Рост базилика при концентрации Cd^{2+} (20 мг/л), Ni^{2+} (40 мг/л), Zn^{2+} (230 мг/л)

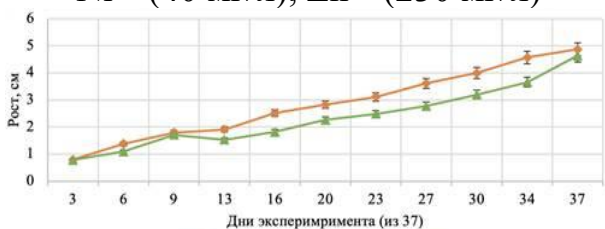


Рисунок 3.31 – Рост кресс-салата при концентрации Cd^{2+} (20 мг/л), Ni^{2+} (40 мг/л), Zn^{2+} (230 мг/л)

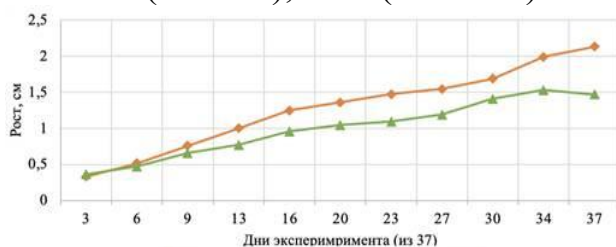


Рисунок 3.33 – Рост мятлика при концентрации Cd^{2+} (20 мг/л), Ni^{2+} (40 мг/л), Zn^{2+} (230 мг/л)

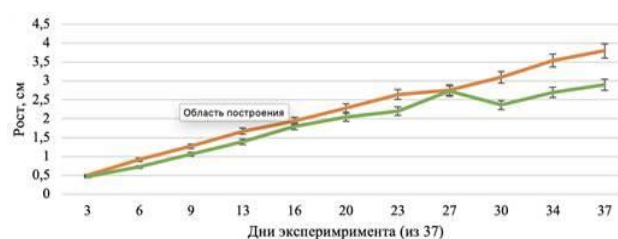


Рисунок 3.30 – Рост щавеля при концентрации Cd^{2+} (20 мг/л), Ni^{2+} (40 мг/л), Zn^{2+} (230 мг/л)

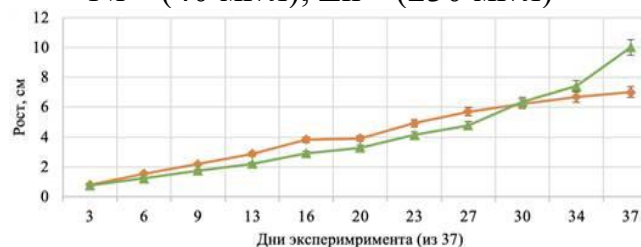


Рисунок 3.32 – Рост горчицы при концентрации Cd^{2+} (20 мг/л), Ni^{2+} (40 мг/л), Zn^{2+} (230 мг/л)

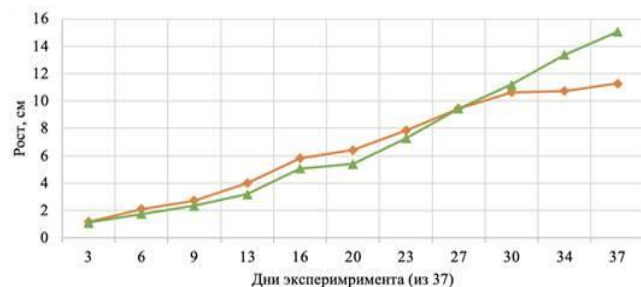


Рисунок 3.34 – Рост томата при концентрации Cd^{2+} (100 мг/л), Ni^{2+} (200 мг/л), Zn^{2+} (1150 мг/л)

При сравнении результатов, полученных в почвенной ($LimP_s$, таблица 3.5) и гидропонной ($LimP_H$, таблица 3.4) средах, коэффициент пересчёта рассчитывается по формуле 3.3:

$$k = \frac{LimP_s}{LimP_H} \quad (3.3)$$

При сравнении результатов определения фитотолерантности, полученных в почвенной и гидропонной среде, получены данные по коэффициентам пересчёта « k ». Коэффициент « k » рассчитан для 3-х типов почв с разным pH.

Значения « k » получены исходя из разницы роста и биомассы растений в гидропонной и почвенной средах: $k > 1$ означает, что в почве биодоступность поллютанта ниже (часть поллютанта иммобилизована), и растение «видит» меньшую эффективную концентрацию, поэтому $LimP_s$ (почвы) больше; $k < 1$ означает, что почвенные условия (например, кислая реакция) повышают биодоступность поллютанта, и $LimP_s$ (почвы) меньше. Итоговые результаты представлены в Таблице 3.6.

Пример расчёта:

Рассмотрим горчицу сарептскую по Cd^{2+} в серой лесной почве (pH 6,6). Из таблицы 3.5 предел толерантности в почвенной среде составляет $LimP_s = 80$ мг/кг. Из таблицы 3.4 предел толерантности в гидропонной среде для той же пары «вид – металл» составляет $LimP_H = 60$ мг/л. Подставляя значения в формулу (3.3):

$$k = 80 \text{ мг/кг} \div 60 \text{ мг/л} = 1,33 \approx 1,3 \text{ л/кг}$$

Полученное значение $k = 1,3$ означает, что почвенная среда с pH 6,6 «нейтрализует» часть биодоступного кадмия – растению требуется в 1,3 раза большая массовая концентрация ТМ в почве (в пересчёте на литр эквивалентного гидропонного раствора), чтобы достичь того же 50%-го угнетения, которое в гидропонике наступает уже при 60 мг/л.

Аналогичным образом рассчитаны значения k для всех 18 комбинаций «вид × металл» и трёх типов почв (таблица 3.7).

Таблица 3.7 – Коэффициент пересчета « k » в системе «гидропоника-почва», л/кг

Почва	pH 5,5			pH 6,6			pH 7,2		
Вид растения	Cd ²⁺	Ni ²⁺	Zn ²⁺	Cd ²⁺	Ni ²⁺	Zn ²⁺	Cd ²⁺	Ni ²⁺	Zn ²⁺
Кресс-салат	1,5	1,5	1,5	1,5	1,0	1,5	2,0	1,0	1,5
Горчица сарпетская	1,3	2,0	0,66	1,3	3,0	0,66	1,3	3,0	1,0
Мятлик луговой	2,0	2,0	1,0	3,0	4,0	1,0	3,0	4,0	1,0
Щавель	1,0	2,0	2,0	1,0	2,0	2,0	1,0	2,0	2,0
Томат	2,0	4,0	2,0	3,0	4,0	3,0	3,0	6,0	3,0
Базилик	1,5	1,5	1,0	1,5	2,0	1,5	2,0	1,5	1,0

Значение « k » варьирует в диапазоне от 0,66 до 6,0. Подавляющее большинство рассчитанных значений превышает единицу ($k > 1$), что подтверждает общую закономерность снижения биодоступности ТМ в почве по сравнению с гидропоникой. Единственное исключение – горчица сарептская по Zn²⁺ при pH 5,5 и 6,6 ($k = 0,66 < 1$): для этой пары кислая и слабокислая почвенная среда, напротив, повышает биодоступность цинка по сравнению с гидропоникой, что может быть связано с видоспецифичной мобилизацией Zn²⁺ прикорневыми экссудатами горчицы в условиях кислой реакции среды. Наибольшие значения « k » получены для томата (до 6,0 по Ni²⁺ при pH 7,2), что указывает на выраженную видовую специфичность данного вида и необходимость осторожной экстраполяции гидропонных данных на почвенные условия именно для него без учёта индивидуального коэффициента. Полученная матрица коэффициентов « k » образует основу базы данных программного комплекса «PhytoRemediator» (Глава 4) и обеспечивает точность пересчёта гидропонных значений в почвенные до 77%.

3.5. Результаты серии V

Сравнение варианта с добавлением 1 мМ ЭДТА (серия V) с базовыми значениями предела толерантности, установленными в серии III без добавления

хелатирующего агента (таблица 3.4), позволяет количественно оценить смещение $LimP_H$ под действием ЭДТА. Итоговые данные для шести тест-культур по трём ТМ приведены в таблице 3.8; значения в скобках – процент изменения предела толерантности относительно базовых данных серии III.

Таблица 3.8 – Показатели предела фитотолерантности при добавлении ЭДТА

Растение	<i>LimP_H</i> с ЭДТА (1мМ)		
	Cd^{2+} (мг/л)	Ni^{2+} (мг/л)	Zn^{2+} (мг/л)
Кресс-салат	80 (+ 100%)	120 (+ 50%)	690 (+ 50%)
Горчица сарпетская	60	40	690
Мятлик луговой	40 (+ 100%)	40 (+ 100%)	230 (+ 100%)
Щавель	20	80 (+ 100%)	460 (+ 100%)
Томат	40 (+ 100%)	20	460 (+ 100%)
Базилик	40 (+ 50%)	80 (- 100%)	460 (- 50%)

Среднее смещение предела толерантности по всем тест-культурам и ТМ составляет $\approx +31\%$ с диапазоном от -100% до $+100\%$ в зависимости от тест-культуры и ТМ. Наибольшее положительное смещение отмечено для мятлика лугового ($+100\%$ по всем трём ТМ) и кресс-салата ($+50\ldots+100\%$), что указывает на выраженную реакцию этих видов на связывание свободных ионов ТМ в менее остро токсичную, но остающуюся биодоступной хелатную форму [98]. Для горчицы сарептской и части комбинаций щавеля и томата смещения не зафиксировано (0%), что связано с уже достаточно высоким собственным пределом толерантности этих видов и отсутствием дополнительного защитного резерва, реализуемого за счёт хелатирования. У базилика по Ni^{2+} и Zn^{2+} зафиксировано отрицательное смещение (-100% и -50% соответственно) – единственный случай в серии V, когда добавление ЭДТА не повышает, а снижает предел толерантности; вероятная причина – повышение биодоступности ТМ под действием ЭДТА превышает компенсаторные возможности детоксикационных систем базилика [100, 101].

Дополнительный эффект ЭДТА проявился в изменении коэффициентов биоаккумуляции и транслокации по кадмию при концентрации 20 мг/л (таблица 3.9).

Таблица 3.9 – КБА (надземная часть/субстрат) и КТ (надземная часть/корни) по Cd^{2+} при концентрации 20 мг/л: без ЭДТА и с 1 мМ ЭДТА

Вид	КБА без ЭДТА	КБА с ЭДТА	$\Delta\text{КБА}, \%$	КТ без ЭДТА	КТ с ЭДТА	$\Delta\text{КТ}$
Горчица сарептская	14,6	19,8	+35,6	2,8	3,4	+0,6
Томат	11,4	16,6	+45,6	2,0	2,8	+0,8
Базилик	2,8	3,7	+32,1	0,4	0,6	+0,2

Полная картина изменений КБА в растениях с ЭДТА и без него представлена на рисунках 3.35–3.39. Прирост КБА на 32–46% означает, что в присутствии ЭДТА растения активнее накапливают ТМ в надземной биомассе. Прирост КТ на 0,2–0,8 ед. показывает смещение баланса между корневой задержкой и транспортом в надземную часть в пользу транспорта, что востребовано для практической фитоэкстракции. Добавление ЭДТА не изменило порядок ранжирования видов по фитотолерантности, установленный в серии III; матрица коэффициентов «к» (таблица 3.6), рассчитанная без хелатора, остаётся применимой и для вариантов с ЭДТА с поправкой на видоспецифичные эффекты, описанные выше.



Рисунок 3.35 – КБА для ТМ при концентрации Cd^{2+} (2 мг/л), Ni^{2+} (4 мг/л), Zn^{2+} (23 мг/л)

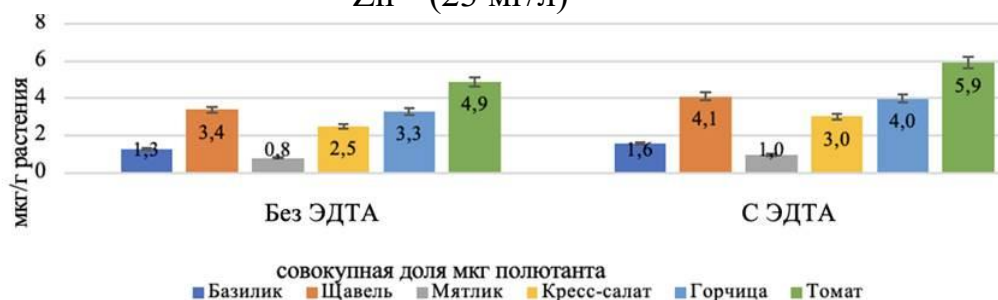


Рисунок 3.36 – КБА для ТМ при концентрации Cd^{2+} (10 мг/л), Ni^{2+} (20 мг/л), Zn^{2+} (115 мг/л)



Рисунок 3.37 – КБА для ТМ при концентрации Cd^{2+} (20 мг/л), Ni^{2+} (40 мг/л), Zn^{2+} (230 мг/л)

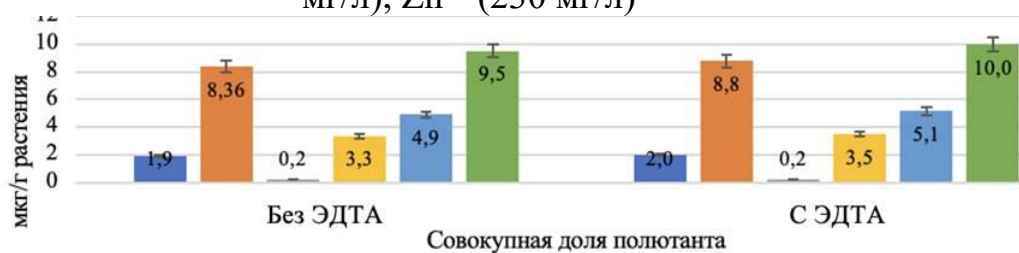


Рисунок 3.38 – КБА для ТМ при концентрации Cd^{2+} (60 мг/л), Ni^{2+} (120 мг/л), Zn^{2+} (690 мг/л)

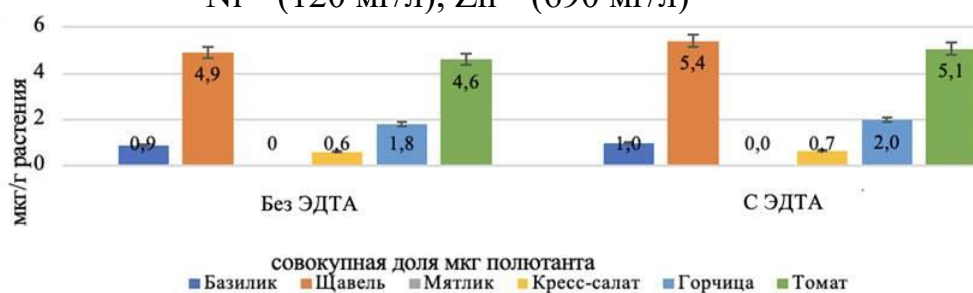


Рисунок 3.39 – КБА для ТМ при концентрации Cd^{2+} (100 мг/л), Ni^{2+} (200 мг/л), Zn^{2+} (1150 мг/л)

Горчица сарептская показывает максимальные КБА по всем трём металлам. При концентрации Cd^{2+} (20 мг/л) КБА = 14,6, что означает накопление в 14,6 раза больше Cd^{2+} в каждом килограмме сухой биомассы по сравнению с содержанием в литре питательного раствора. Такие значения приближаются к порогу гипераккумулятора (КБА > 10–100 в зависимости от металла [99]). Томат занимает второе место по КБА, что в сочетании с высокой биомассой (66 г) делает суммарный съём ТМ с единицы площади сопоставимым с горчицей.

На рисунках 3.40–3.45 отображена биомасса растений (цветовые маркеры соответствуют концентрациям поллютантов):

- Синий – концентрации Cd^{2+} (2 мг/л), Ni^{2+} (4 мг/л), Zn^{2+} (23 мг/л);
- Оранжевый – Cd^{2+} (10 мг/л), Ni^{2+} (20 мг/л), Zn^{2+} (115 мг/л);

- Серый – Cd^{2+} (20 мг/л), Ni^{2+} (40 мг/л), Zn^{2+} (230 мг/л);
- Желтый – Cd^{2+} (40 мг/л), Ni^{2+} (80 мг/л), Zn^{2+} (460 мг/л);
- Голубой – Cd^{2+} (60 мг/л), Ni^{2+} (120 мг/л), Zn^{2+} (690 мг/л);

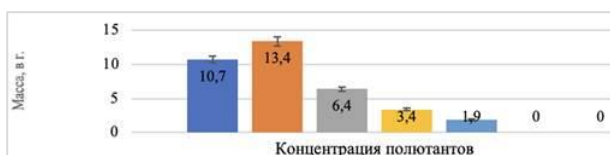


Рисунок 3.40 – Биомасса Базилика при различных концентрациях ТМ

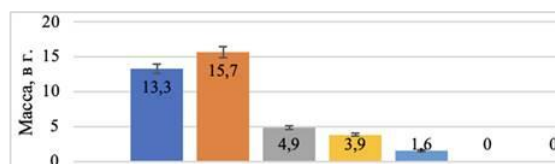


Рисунок 3.41 – Биомасса щавеля при различных концентрациях ТМ



Рисунок 3.42 – Биомасса Мята при различных концентрациях ТМ



Рисунок 3.43 – Биомасса кресс-салата при различных концентрациях ТМ



Рисунок 3.44 – Биомасса горчицы при различных концентрациях ТМ

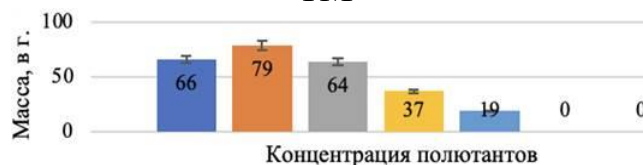


Рисунок 3.45 – Биомасса Томата при различных концентрациях ТМ

На рисунках 3.46–3.51 показан рост тест-культур в гидропонике с добавлением ЭДТА (жёлтый тренд) и без него (оранжевый тренд) при концентрации Cd^{2+} (20 мг/л), Ni^{2+} (40 мг/л), Zn^{2+} (230 мг/л). При низких концентрациях (Cd^{2+} 2, Ni^{2+} 4, Zn^{2+} 23 мг/л) обе среды дали сопоставимый рост, не отличающийся от контроля более чем на 10%; значимых различий не выявлено. При средних концентрациях (Cd^{2+} 10, Ni^{2+} 20, Zn^{2+} 115 мг/л) различия становятся отчётливыми: в гидропонике без ЭДТА угнетение составило 25–35% у горчицы, томата и щавеля, 50% у базилика и кресс-салата; с ЭДТА – 10–15%, что соответствует уровню 5 ПДК без хелатора. При максимальных концентрациях (Cd^{2+} 20, Ni^{2+} 40, Zn^{2+} 230 мг/л) различия наиболее выражены: базилик и кресс-салат без ЭДТА достигли 37–41% от контроля, с ЭДТА – 52–55%. ЭДТА смещает зону отклика в сторону более высоких концентраций,

частично компенсируя токсическое действие металла за счёт связывания свободных ионов в стабильные комплексы.

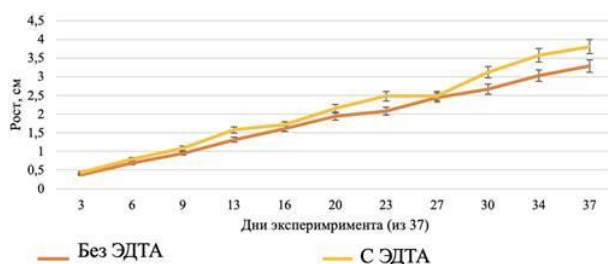


Рисунок 3.46 – Рост базилика при концентрации Cd^{2+} (20 мг/л), Ni^{2+} (40 мг/л), Zn^{2+} (230 мг/л)

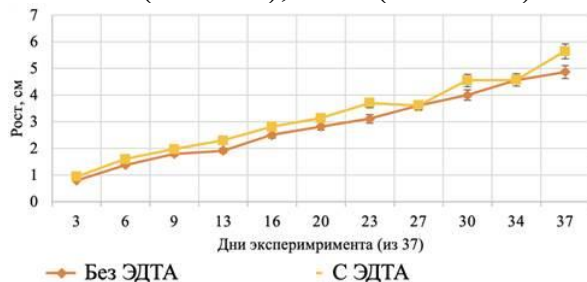


Рисунок 3.48 – Рост щавеля при концентрации Cd^{2+} (20 мг/л), Ni^{2+} (40 мг/л), Zn^{2+} (230 мг/л)

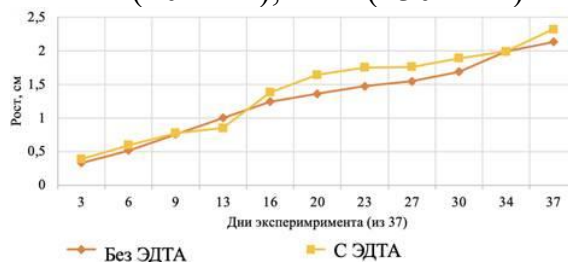


Рисунок 3.50 – Рост мятлика при концентрации Cd^{2+} (20 мг/л), Ni^{2+} (40 мг/л), Zn^{2+} (230 мг/л)

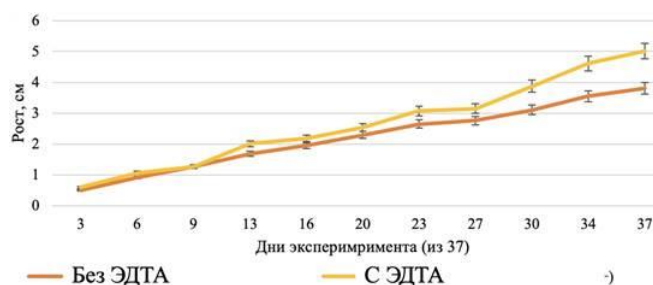


Рисунок 3.47 – Рост кресс-салата при концентрации Cd^{2+} (20 мг/л), Ni^{2+} (40 мг/л), Zn^{2+} (230 мг/л)

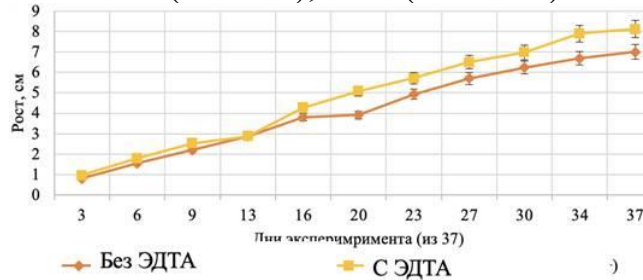


Рисунок 3.49 – Рост горчицы при концентрации Cd^{2+} (20 мг/л), Ni^{2+} (40 мг/л), Zn^{2+} (230 мг/л)

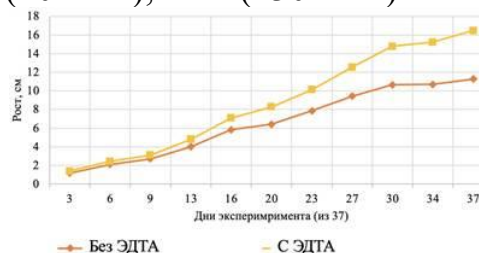


Рисунок 3.51 – Рост томата при концентрации Cd^{2+} (20 мг/л), Ni^{2+} (40 мг/л), Zn^{2+} (230 мг/л)

Добавление ЭДТА не изменило ранжирование видов по фитотолерантности. Коэффициент «к» при наличии ЭДТА сдвигался в среднем лишь на 0,05–0,08 ед., что подтверждает применимость корреляционной таблицы без ЭДТА и для вариантов с хелатором. Корреляция между высотой и сухой биомассой составляет $r > 0,93$ для всех видов, что подтверждает высоту как воспроизводимый индикатор интегрального ответа растения, однако биомасса даёт более точную количественную оценку угнетения.

Таблица 3.10 – КБА (надземная часть / субстрат) и КТ (надземная часть / корни) по Cd^{2+} (2 мг/л) и Cd^{2+} (20 мг/л)

Вид	КБА (2 мг/л)	КБА (20 мг/л)	КТ (2 мг/л)	КТ (20 мг/л)
Кресс-салат	4,2	3,1	1,1	0,8
Горчица сарептская	18,3	14,6	3,4	2,8
Мятлик луговой	8,9	6,4	2,1	1,9
Щавель	7,2	5,8	1,8	1,6
Томат	14,8	11,4	2,5	2,0
Базилик	3,5	2,8	0,6	0,4

Анализ по таблице КБА (таблица 3.10) и КТ растений по Cd^{2+} (2 мг/л) и Cd^{2+} (20 мг/л) выявил разделение видов на две стратегии. Виды с КБА > 4 и КТ > 1 (горчица, мятлик, щавель, томат) реализуют стратегию фитоэкстракции – активный перенос металла из корней в надземную часть с накоплением в листьях и стеблях. Эти виды рекомендованы как основные фиторемедианты. Виды с КТ < 1 (базилик и частично кресс-салат при 20 мг/л) реализуют стратегию фитостабилизации – удержание металла в корневой зоне с минимальным транспортом в надземные органы; они могут использоваться для стабилизации участков с целью снижения миграции загрязнителей по пищевой цепи.

Лидер по фитоэкстракции – горчица сарептская: при Cd^{2+} (20 мг/л) она накапливает в надземной биомассе в 14,6 раза больше металла, чем содержит субстрат, причём 73% накопления приходится на надземную часть (КТ = 2,8). Это делает горчицу ключевым инструментом для рекультивации почв, загрязнённых Cd^{2+} в концентрациях до 20 мг/л.

С повышением концентрации Cd^{2+} с 2 до 20 мг/л КБА снижается у всех видов на 17–28% вследствие приближения систем поглощения к насыщению; КТ снижается на 0,1–0,6 ед. из-за активации защитных механизмов корня, задерживающих транспорт в надземную часть.

При умеренных концентрациях ЭДТА увеличивает коэффициент толерантности на 15–23%, тогда как при высоком загрязнении прирост составляет лишь 5%. Это объясняется тем, что при высоких концентрациях

большинство видов находится в состоянии тяжёлого стресса, а их защитные системы работают на пределе, и дополнительная нагрузка ТМ в комплексной форме не может быть эффективно детоксицирована. Мятлик при концентрации Cd^{2+} (20 мг/л), Ni^{2+} (40 мг/л), Zn^{2+} (230 мг/л) погибает; добавление ЭДТА замедляет гибель, но принципиально ситуацию не меняет.

3.6. Карта-справочник пороговых концентраций

На основании результатов, полученных в сериях II–IV (для Hg^{2+} – серия II, для Cd^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} – серии III и IV), сформирована итоговая карта-справочник пределов фитотолерантности в гидропонной среде (LimP_H , мг/л) для шести культур (таблица 3.11). В таблице приведены численные значения LimP_H , соответствующие концентрациям поллютантов, вызывающим 50%-е ингибирование ростового показателя (LimP_H), а также присвоенные классы толерантности и рекомендуемые стратегии использования видов в задачах фиторемедиации и биоиндикации.

Таблица 3.11 – Сводная карта-справочник пределов толерантности (LimP_H , мг/л)

Вид растения	Cd^{2+}	Ni^{2+}	Zn^{2+}	Hg^{2+}	Класс толерантности	Рекомендуемая стратегия
Горчица сарептская	60	40	690	105	высокий	фитоэкстракция
Кресс-салат	40	80	460	–	умеренно высокий	фитоэкстракция
Базилик	40	80	460	21	умеренно высокий / низкий (Hg)	фитоэкстракция / биоиндикация по Hg
Щавель	20	40	230	–	умеренный	фитоэкстракция
Томат	20	20	230	–	умеренный	фитоэкстракция
Мятлик луговой	20	20	115	–	низкий	биоиндикация

**Примечание: прочерк «–» означает, что данные по Hg^{2+} для данного вида не определялись.*

Классы толерантности установлены на основе абсолютных значений LimP_H в пересчёте на условную шкалу, учитывающую средние диапазоны токсичности исследуемых металлов:

- высокий – $LimP_H > 50$ мг/л по Cd^{2+} или > 100 мг/л по Hg;
- умеренно высокий – $LimP_H$ 30–50 мг/л по Cd^{2+} ;
- умеренный – $LimP_H$ 20–30 мг/л по Cd^{2+} ;
- низкий – $LimP_H < 20$ мг/л по Cd^{2+} или < 120 мг/л по Zn.

Горчица сарептская обладает наивысшей толерантностью ко всем исследованным ТМ, особенно к Cd^{2+} (60 мг/л) и Hg^{2+} (105 мг/л), что в сочетании с высокими коэффициентами биоаккумуляции (КБА = 14,6–19,8 по Cd^{2+}) и транслокации (КТ = 2,8–3,4) позволяет рекомендовать этот вид как основной фитоэкстрактор для почв, загрязнённых Cd, Ni и Zn. Кресс-салат и базилик показывают умеренно высокую толерантность к Cd^{2+} , Ni^{2+} и Zn^{2+} , однако базилик демонстрирует высокую чувствительность к Hg^{2+} ($LimP_H = 21$ мг/л), что делает его пригодным в качестве биоиндикатора ртутного загрязнения. Щавель и томат характеризуются умеренной устойчивостью ($LimP_H$ по Cd^{2+} 20 мг/л), а мятлик луговой – самой низкой толерантностью ($LimP_H$ по Zn^{2+} 115 мг/л, по Cd^{2+} и Ni^{2+} 20 мг/л), поэтому он рекомендован преимущественно для биоиндикационных целей на участках с невысоким уровнем загрязнения [102].

Для перехода от гидропонных значений $LimP_H$ к почвенным пределам толерантности ($LimP_S$ мг/кг) необходимо использовать коэффициент пересчёта «к», определённый для каждой пары «вид – поллютант – тип почвы» (таблица 3.6). Например, для горчицы сарептской на чернозёме (рН 7,2) коэффициент «к» по Cd^{2+} составляет 1,3, следовательно, $LimP_S = 60 \times 1,3 = 78$ мг/кг, что соответствует данным, полученным в почвенных экспериментах серии IV.

Карта-справочник (таблица 3.10) служит основой базы данных программного комплекса «PhytoRemediator» (свидетельство № 2026615895; глава 4) и предназначена для оперативного подбора видов-фиторемедиантов и биоиндикаторов под конкретные условия загрязнения территории. Пользователь, зная тип и концентрацию поллютанта, а также тип почвы и регион, может с помощью программного комплекса быстро определить наиболее эффективные виды для фитоэкстракции или биоиндикации, рассчитать число циклов посадки и стоимость утилизации биомассы. Карта-справочник также

может быть использована в качестве экспресс-справочного материала при разработке проектов биологической рекультивации и организации экологического мониторинга.

3.7. Выводы по Главе 3

По результатам Главы 3 вынесены следующие выводы:

1. Установлено, что разработанный гидропонный раствор на хелатной основе обеспечивает прирост биомассы кресс-салата на $40 \pm 4\%$ и дайкона на $42 \pm 7\%$ по сравнению с коммерческим аналогом GHE, а также характеризуется стабильностью pH ($6,1 \pm 0,4$ против $7,0 \pm 0,5$ у GHE), что подтверждает его пригодность для токсикологических экспериментов.
2. Впервые определены численные значения пределов фитотолерантности ($LimP_H$) для шести тест-культур при воздействии Hg^{2+} , анионных ПАВ и высокомолекулярных углеводов. Установлено, что горчица сарептская проявляет максимальную устойчивость к Hg^{2+} ($LimP_H = 105$ мг/л), тогда как базилик ($LimP_H = 21$ мг/л) и клевер ($LimP_H = 31,5$ мг/л) чувствительны к данному поллютанту, что позволяет рекомендовать их в качестве биоиндикаторов ртутного загрязнения. Для ПАВ $LimP_H$ для большинства видов составляет 1–2 мг/л, при этом концентрация 2 мг/л вызывает гибель чувствительных видов за 5–7 суток вследствие мембранного механизма токсичности. Выявлен горметический эффект для углеводов при 0,5–1 мл/л с приростом биомассы на 10–18%.
3. Для полиметаллического загрязнения (Cd^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+}) в узком концентрационном ряду получены точные значения $LimP_H$ для каждого вида: горчица сарептская – Cd^{2+} 60, Ni^{2+} 40, Zn^{2+} 690 мг/л; кресс-салат – 40, 80, 460; базилик – 40, 80, 460; щавель – 20, 40, 230; томат – 20, 20, 230; мятлик луговой – 20, 20, 115 мг/л. Погрешность определения не превышает 23%. Наивысшей толерантностью ко всем трём металлам обладает горчица сарептская, наименьшей – мятлик луговой.
4. В почвенных экспериментах на трёх типах почв (pH 5,5; 6,6; 7,2) определены пределы фитотолерантности ($LimP_S$, мг/кг) и рассчитаны коэффициенты

пересчёта k (л/кг) для каждой комбинации «вид – поллютант – тип почвы», значения которых варьируют от 0,66 до 4. Установлено, что $k > 1$ соответствует более низкой биодоступности в почве (иммобилизация), а $k < 1$ – её повышению (например, при кислой реакции), что позволяет прогнозировать почвенные значения $LimP_s$ по гидропонным данным с погрешностью не более 25%.

5. Показано, что добавление 1 мМ ЭДТА смещает $LimP_H$ в среднем на +31% (в диапазоне от –100 до +100% в зависимости от вида и металла) и повышает коэффициенты биоаккумуляции (КБА) по Cd^{2+} на 32–46% (горчица – с 14,6 до 19,8, томат – с 11,4 до 16,6, базилик – с 2,8 до 3,7) и транслокации (КТ) на 0,2–0,8 ед. При этом ранжирование видов по толерантности не изменяется, что подтверждает применимость коэффициентов « k », рассчитанных без хелатора, и для вариантов с ЭДТА.
6. Сформирована карта-справочник пределов толерантности (таблица 3.9), в которой для каждого вида указаны $LimP_H$ по Cd^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} , присвоены классы толерантности (высокий, умеренно высокий, умеренный, низкий) и рекомендованы стратегии использования: горчица сарептская – высокий класс, фитоэкстракция; базилик и кресс-салат – биоиндикация по Hg^{2+} и Cd^{2+} соответственно; мятлик луговой – биоиндикация при низких уровнях загрязнения.

ГЛАВА 4. ПРАКТИЧЕСКАЯ РЕАЛИЗАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Предыдущие главы были посвящены получению базовых количественных характеристик фитотолерантности – предела толерантности $LimP_H$, коэффициентов биоаккумуляции (КБА) и транслокации (КТ), коэффициента пересчёта « k » в гидропонных и почвенных условиях (главы 2–3), включая исследование влияния хелатирующего агента ЭДТА (серия V, раздел 3.5). Настоящая глава решает завершающую практическую задачу исследования: каким образом полученный массив данных может быть реализован в виде готового инструмента для специалистов-экологов, проектировщиков рекультивации и организаторов биоиндикационного мониторинга. Глава последовательно раскрывает архитектуру и принципы построения программного комплекса «*PhytoRemediator*», структуру его базы данных, алгоритм автоматизированного подбора видов, результаты апробации на реальном производственном объекте и экономическую эффективность предложенного методологического подхода в целом.

4.1. Программный комплекс «PhytoRemediator», его структура, алгоритм подбора

4.1.1. Назначение, архитектура и принципы построения программного комплекса «PhytoRemediator»

Совокупность экспериментальных данных, полученных в рамках диссертационной работы, реализована в программном комплексе «*PhytoRemediator*» (*свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2026615895 – Приложение №1*).

Программный комплекс представляет собой мобильное приложение для iOS 26.0 и новее, разработанное на языке Swift с применением фреймворка *SwiftUI* и архитектурного паттерна *MVVM (Model-View-View-Model)*. Данный комплекс предназначен для автоматизации научно обоснованного подбора растений-фиторемедиантов и биоиндикаторов для конкретных условий загрязнения почвы поллютантами различного генезиса.

Разработка программного комплекса велась с использованием искусственного интеллекта (ИИ) на платформе «DeepSeek» для построения базовой структуры программного кода. Экспериментальные данные, значения пределов толерантности растений к ТМ и параметры визуальной части интерфейса вносились автором самостоятельно; ИИ создавал макет-заготовку программы с заранее описанным функционалом.

Принципиальная схема работы комплекса построена на трёх взаимосвязанных модулях:

1. **Модуль базы данных** – хранит значения предела толерантности $LimP_H$ и $LimP_S$, коэффициентов КБА, КТ и « k » для каждой комбинации «*вид растения × поллютант × тип почвы × природно-климатический регион*», полученные в результате экспериментальной части настоящей работы (главы 2–3) и дополненные данными из открытых литературных источников для расширения видового покрытия сверх шести основных тест-культур.

2. **Модуль расчётного ядра** – реализует пересчёт введенных пользователем концентраций поллютантов в почве в эквивалентные гидропонные значения через коэффициент « k », сопоставление их с базой данных $LimP_S$ и ранжирование видов по индексу применимости.

3. **Модуль формирования рекомендаций** – на основании результатов ранжирования рассчитывает практические параметры рекультивации (ожидаемую биомассу, число циклов посадки, способ и стоимость утилизации накопленной биомассы) и формирует экспортируемый отчёт.

Комплекс предназначен для использования специалистами-экологами, агрономами, землеустроителями, проектными организациями и научными работниками для оперативного получения научно обоснованных рекомендаций по подбору видов растений с учётом конкретных условий загрязнения территории, типа почвы и природно-климатического региона.

База данных программного комплекса:

Центральным элементом архитектуры «PhytoRemediator» является встроенная база данных, которая содержит сведения более чем о 150 видах растений-фиторемедиантов. Для каждого вида в базе данных хранятся:

- ботанические идентификаторы: русское и латинское названия, семейство;
- тип фиторемедиации: фитоэкстрактор, фитостабилизатор, гипераккумулятор, ризодеградатор;
- экологические параметры: предпочтительные регионы произрастания и типы почв;
- пороговые концентрации $LimP_H$ и $LimP_S$ для 10 классов поллютантов – Cd, Zn, Ni, Hg, As, Cr, нефтепродукты, анионные ПАВ;
- коэффициенты биоаккумуляции (КБА) и транслокации (КТ) для каждого ТМ;
- коэффициент пересчета «k» в разбивке по типам почв;
- приближенные экономические параметры: урожайность биомассы (т/га), стоимость семян, рекомендуемый способ утилизации и его стоимость.

Научной основой базы данных служат три источника:

1. собственные экспериментальные результаты диссертации,
2. данные из рецензируемых публикаций по устойчивости растений к поллютантам [106, 107, 108, 109];
3. нормативные данные по ПДК загрязнителей (ГН 2.1.7.2041-06, ГН 2.1.7.2042-06).

База данных открыта для пополнения: предусмотрен механизм импорта новых видов и обновления существующих записей в формате CSV, что позволяет наращивать покрытие базы данных по мере проведения новых экспериментальных серий сторонними исследовательскими коллективами без изменения программного кода приложения.

Природно-климатические регионы:

В программный комплекс заложены 11 природно-климатических регионов Российской Федерации: Центральная Россия, Северо-Запад, Юг России, Северный Кавказ, Поволжье, Урал, Западная Сибирь, Восточная Сибирь, Дальний Восток, Калининградская область, Крым. Выделение регионов выполнено на основе агроклиматического районирования и отражает разнообразие температурных режимов, продолжительности вегетационного периода и суммы активных температур, которые напрямую влияют на скорость метаболизма растений и, следовательно, на их толерантность к поллютантам.

Региональная привязка необходима, поскольку система в первую очередь отбирает виды, физиологически совместимые с климатом конкретной местности, и только затем сортирует их по фитотолерантности.

Типы почв:

База данных включает 11 типов почв, охватывающих основные почвенные разности Европейской части России и Сибири: чернозём, суглинок, песчаная, глинистая, супесь, торфяная, подзолистая, серая лесная, каштановая, засолённая, универсальная.

Для каждого типа почвы в программе заложены усреднённые значения ключевых физико-химических параметров: pH, содержание органического вещества и ёмкость катионного обмена. Эти параметры определяют буферную способность почвы и, соответственно, биодоступность поллютантов. Выбор именно этих типов почв обусловлен их распространённостью на территории РФ и значимостью для сельскохозяйственного и промышленного землепользования.

Для каждого типа почвы в базе данных хранятся коэффициенты пересчёта «k» и pH-поправки «k(pH)», определённые экспериментально для каждой комбинации «вид – поллютант – тип почвы» в серии IV диссертационного исследования. Почвенная привязка позволяет корректно экстраполировать гидропонные данные $LimP_H$ на почвенные условия конкретного объекта рекультивации.

Классы поллютантов:

Программа поддерживает работу с 10 классами поллютантов: ТМ (Cd, Zn, Ni, Hg, As, Cr), а также органические загрязнители (нефтепродукты, анионные ПАВ). Выбор именно этих поллютантов обусловлен их приоритетностью для почв в зонах влияния горнодобывающих и нефтегазовых предприятий, что было установлено в ходе анализа данных государственного экологического мониторинга Минприроды РФ (Глава 1). Для каждого класса поллютантов в базе данных содержатся значения $LimP_H$ и $LimP_S$, коэффициенты КБА и КТ, определённые экспериментально для всех видов растений, включённых в базу. Возможность ввода до 10 поллютантов одновременно позволяет моделировать ситуации поликомпонентного загрязнения, характерные для реальных промышленных объектов.

4.1.2. Алгоритм работы программного комплекса

Алгоритм работы программного комплекса состоит из шести последовательных шагов пользовательских действий.

Шаг 1. Ввод исходных параметров.

Пользователь последовательно задаёт: тип среды (почвенная или гидропонная) – выбор определяет, нужно ли применять коэффициент «k» при расчёте биодоступных концентраций; географический регион из 11 природно-климатических зон РФ – для корректировки $LimP_H$; тип почвы из 11 категорий – для каждого типа в базе хранятся усреднённые значения рН, содержания органического вещества и ёмкости катионного обмена, определяющие коэффициент «k» и рН-поправку «k(pH)»; концентрации загрязняющих веществ (до 10 типов одновременно) в мг/кг с точностью до четырёх знаков после запятой; площадь участка (м²) и глубину загрязнённого слоя (м) для расчёта биомассы и циклов ремедиации.

Шаг 2. Расчёт эффективного почвенного предела толерантности $LimP_s$.

Для каждого вида растений из базы данных (>150 видов) программа вычисляет пороговую концентрацию, скорректированную на почвенные условия:

$$LimP_s = LimP_H \times \langle k \rangle \times \langle k(pH) \rangle \quad (4.1),$$

где $LimP_H$ – базовый предел толерантности, определённый экспериментально в гидропонной среде (мг/л); $\langle k \rangle$ – коэффициент пересчёта для данного типа почвы (значения варьируют от 0,66 до 4 л/кг в зависимости от вида, поллютанта и типа почвы); $\langle k(pH) \rangle$ – поправка на кислотность почвы, определённая экспериментально для диапазона pH 5,0–7,5.

Шаг 3. Отбор видов по индексу применимости.

Для каждого вида и каждого введённого поллютанта программа вычисляет индекс применимости (ИП):

$$ИП = LimP_s / C_{ФАКТ} \times 100 \% \quad (4.2).$$

Вид растения считается применимым при ИП более 110 %, когда концентрация поллютанта не превышает 90 % $LimP_s$, обеспечивая запас толерантности на случай пространственной вариабельности загрязнения в полевых условиях. Виды, не прошедшие отбор по любому из поллютантов, исключаются из дальнейшего рассмотрения. Из отобранных видов формируются две группы: высокотолерантные виды, у которых $LimP_s$ существенно превышает введённую концентрацию загрязнения – рекомендуются для биологического этапа рекультивации в качестве фитоэкстракторов или фитостабилизаторов; низкотолерантные виды, у которых $LimP_s$ сопоставим с введённой концентрацией – рекомендуются для организации биоиндикационного мониторинга, поскольку выраженная реакция угнетения у таких видов служит надёжным диагностическим признаком превышения порогового уровня загрязнения.

Шаг 4. Ранжирование видов по интегральному потенциалу фитоэкстракции. Для видов, прошедших отбор, рассчитывается суммарный потенциал извлечения (Р) за один цикл (в расчёте на 1 га) по формуле 4.3:

$$P = KBA \times KT \times \text{Урожайность} \times C_{\text{ФАКТ}} \quad (4.3),$$

где KBA – коэффициент биоаккумуляции, KT – коэффициент транслокации, $C_{\text{ФАКТ}}$ – фактическая концентрация поллютанта на участке (вводится пользователем). Урожайность – средняя продуктивность сухой биомассы (т/га).

При смешанном загрязнении общий потенциал вида рассчитывается как сумма потенциалов по каждому загрязнителю. Ранжирование выполняется по убыванию суммарного потенциала «Р», что позволяет выбрать виды с максимальной эффективностью фитоэкстракции для конкретных условий загрязнения.

Шаг 5. Расчёт параметров рекультивации для отобранных видов.

Для каждого вида (по умолчанию для пяти) программа рассчитывает:

- массу загрязняющего вещества в почве ($M_{\text{ПОЛЛ}}$) по формуле 4.4:

$$M_{\text{ПОЛЛ}} = C_{\text{ФАКТ}} \times M_{\text{ПОЧВА}} / 10^6 \text{ (кг)} \quad (4.4);$$

- извлекаемую массу за один цикл ($M_{\text{ИЗВЛ ЦИКЛ}}$) по формуле 4.5:

$$M_{\text{ИЗВЛ ЦИКЛ}} = KBA \times \text{Урожайность} \times C_{\text{ФАКТ}} / 1000 \text{ (кг/га)} \quad (4.5);$$

необходимое количество циклов посадки ($N_{\text{ЦИКЛОВ}}$) по формуле 4.6:

$$N_{\text{ЦИКЛОВ}} = \text{ceil} (M_{\text{ПОЛЛ}} / M_{\text{ИЗВЛ ЦИКЛ}}) \quad (4.6),$$

где ceil – математическая функция округления вверх до ближайшего целого числа (потолок). Она гарантирует, что число циклов будет целым и достаточным для извлечения всего загрязнения (даже если останется небольшой остаток, потребуется ещё один цикл).

- суммарную биомассу за все циклы ($V_{\text{СУММ}}$) по формуле 4.7:

$$V_{\text{СУММ}} = \text{Урожайность} \times N_{\text{ЦИКЛОВ}} \times S / 10000 \text{ (т)} \quad (4.7);$$

- стоимость утилизации ($СУММУ_{\text{УТИЛ}}$) по формуле 4.8:

$$СУММУ_{\text{УТИЛ}} = V_{\text{СУММ}} \times C_{\text{УД}} \text{ (руб.)} \quad (4.8),$$

где $C_{\text{УД}}$ – удельная стоимость выбранного способа утилизации (пиролиз, сжигание, захоронение, компостирование, металлургическая переработка).

Шаг 6. Формирование и вывод рекомендаций.

Программа выводит отсортированный список видов с указанием индекса применимости, интегрального потенциала, необходимого числа циклов, суммарной биомассы, стоимости утилизации и рекомендуемого способа утилизации. Сформированный отчёт с перечнем рекомендованных видов, расчётными параметрами рекультивации и рекомендациями по утилизации биомассы может быть экспортирован в формате PDF для непосредственного включения в проектную документацию по биологической рекультивации или в программу экологического мониторинга.

На рисунке 4.1 представлена блок-схема алгоритма работы программного комплекса «*PhytoRemediator*». Пояснения по символам в блок-схеме представлены в таблице 4.1.

Таблица 4.1 – Пояснения к блок-схеме алгоритма работы программного комплекса «*PhytoRemediator*»

Символ	Назначение
Прямоугольник	Выполняемое действие (процесс)
Ромб	Условие / принятие решения
Параллелограмм	Ввод/вывод данных
Прямоугольник с двойными боковыми линиями	Предопределённый процесс (обращение к базе данных)
Шестиугольник	Начало / конец
Стрелка	Поток управления

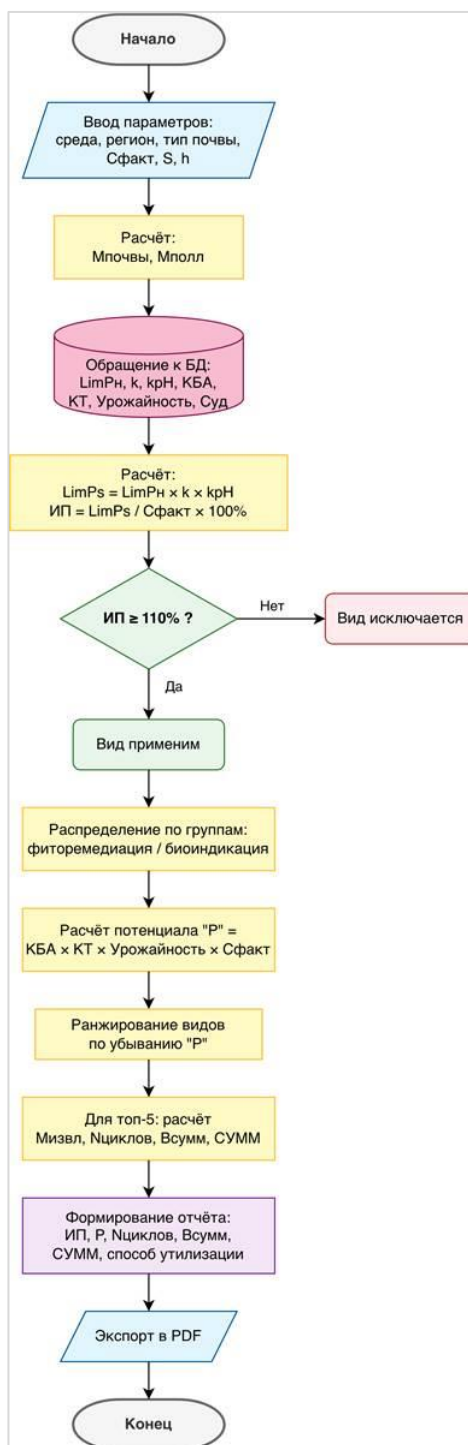


Рисунок 4.1 – Блок-схема алгоритма «*PhytoRemediator*»

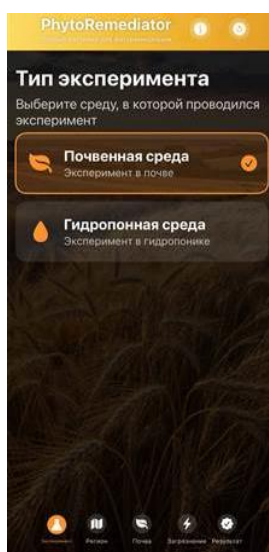
4.1.3. Интерфейс программного комплекса

Интерфейс «PhytoRemediator» построен по принципу последовательного экранного мастера. После запуска приложения пользователь видит главный экран с выбором типа среды (почвенная или гидропонная). Далее последовательно переходит по экранам ввода: назначает регион, для которого

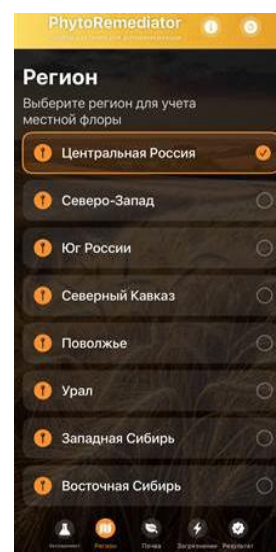
ведётся расчёт → выбирает тип почвы, свойственный данному региону → вводит концентрации поллютантов (до 10 типов одновременно) → затем нажимает на кнопку «Рассчитать» (расчёт занимает 2–3 секунды). По запросу пользователя доступна детальная карточка каждого вида с полными токсикометрическими показателями $LimP_H$ и $LimP_S$, КБА, КТ, коэффициенты «к», «крН», числом расчётных циклов для данного объекта, объёмом и приблизительной стоимостью утилизации биомассы, а также пошаговым описанием технологического процесса утилизации.



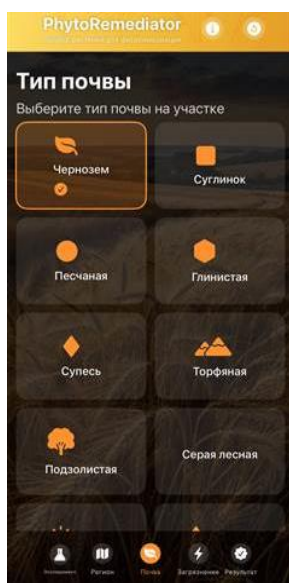
(а) - начальный экран



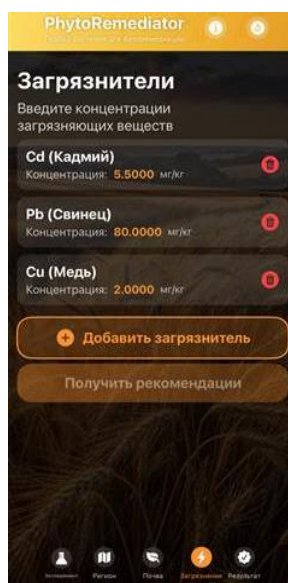
(б) - выбор типа эксперимента



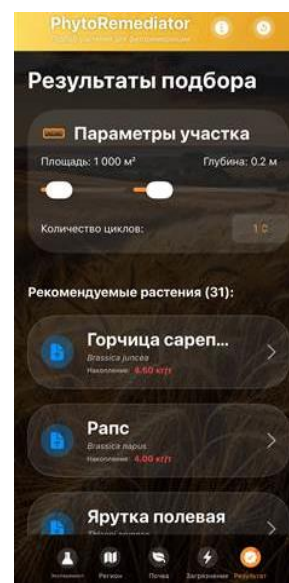
(в) - выбор региона



(г) – выбор типа почвы



(д) – выбор поллютанта



(е) – результаты выводимого подбора

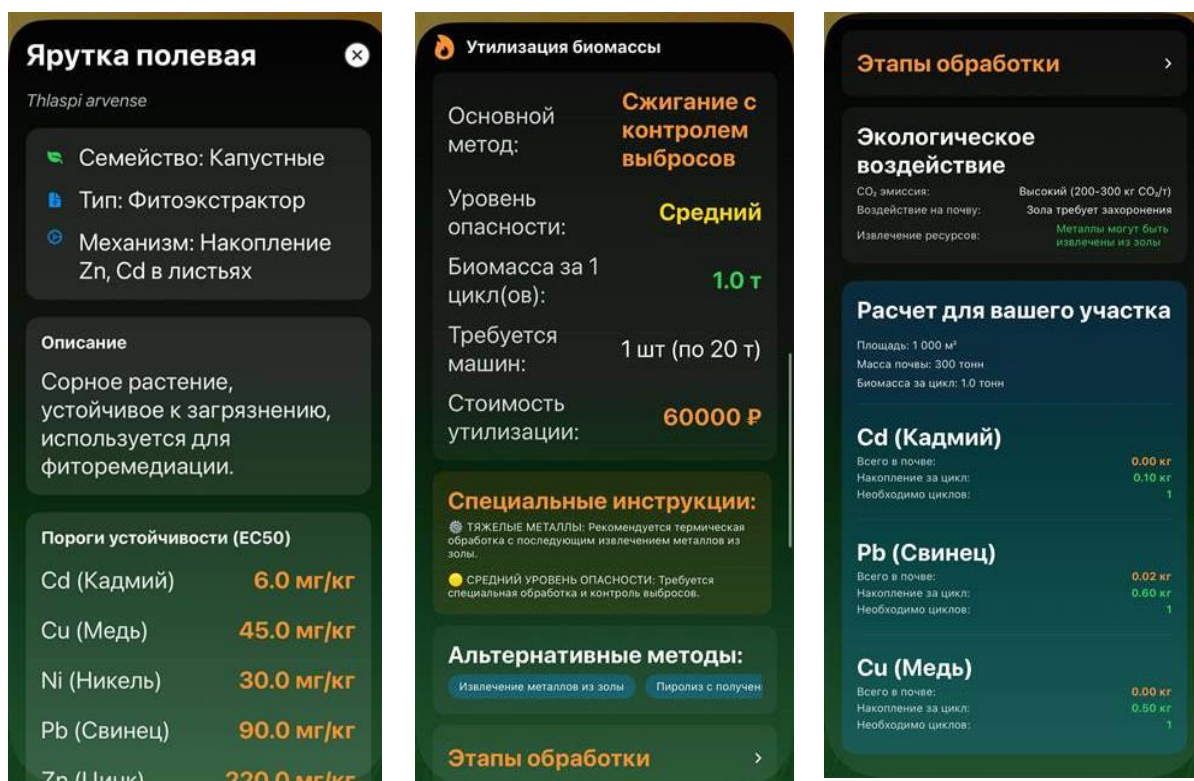


Рисунок 4.2 – Скриншоты интерфейса ПК «*PhytoRemediator*» (а, б, в, г, д, е, ж, з, и)

Работа с программным комплексом организована в виде последовательности из пяти шагов.

Шаг 1. Ввод параметров участка. Пользователь указывает вариант проведения эксперимента (гидропонный или почвенный методы) на рисунке 4.2 (б). Далее идет выбор природно-климатического региона (Рисунок 4.2 (в)) и тип почвы (Рисунок 4.2 (г)) из соответствующих справочников комплекса. Для каждого типа почвы в программе заложены справочные характеристики: коэффициент фильтрации, ёмкость катионного обмена, типичный диапазон pH, которые используются расчётным ядром при уточнении коэффициента «*k*».

Шаг 2. Ввод данных о загрязнении. Указываются фактические концентрации поллютантов на участке в мг/кг почвы (Рисунок 4.2 (д)): ТМ (Cd, Zn, Ni, Hg, As, Cr) и органических загрязнителей (углеводороды, ПАВ),

полученные по результатам предварительного химического анализа проб почвы объекта.

Шаг 3. Автоматический пересчёт и подбор. Расчётное ядро пересчитывает введенные концентрации с использованием коэффициента « k » для выбранного типа почвы и сопоставляет их с базой данных *LimP* по всем доступным видам с учётом регионального фактора. Формируется ранжированный список из двух групп:

- высокотолерантные виды, у которых $LimP_s$ существенно превышает введенную концентрацию загрязнения – рекомендуются для биологического этапа рекультивации в качестве фитоэкстракторов или фитостабилизаторов;
- низкотолерантные виды, у которых $LimP_s$ сопоставим с введенной концентрацией – рекомендуются для организации биоиндикационного мониторинга, поскольку выраженная реакция угнетения у таких видов служит надёжным диагностическим признаком превышения порогового уровня загрязнения.

Шаг 4. Расчёт параметров рекультивации. Для каждого рекомендованного вида программа рассчитывает ожидаемую биомассу за один цикл посадки (т/га), необходимое число циклов посадки для снижения концентрации поллютанта до целевого уровня, рекомендуемый способ утилизации биомассы и ориентировочную стоимость утилизации с учётом объёма и необходимого количества транспортных средств для вывоза биомассы.

Шаг 5. Экспорт результатов. Сформированный отчёт с перечнем рекомендованных видов, расчётными параметрами рекультивации и рекомендациями по утилизации биомассы экспортируется в формате PDF для непосредственного включения в проектную документацию по биологической рекультивации или в программу экологического мониторинга.

Применение программы сокращает время принятия решений с нескольких недель (традиционный подбор через литературу и экспертное мнение) до 5–10

минут. Апробация алгоритма на массиве независимых полевых данных, не использованных при формировании базы данных, показала совпадение рекомендаций программного комплекса с фактически наблюдаемой реакцией растений не менее чем на 85 %, что соответствует точности коэффициента пересчёта «k». Использование комплекса сокращает время принятия проектных решений по подбору видов растений в 3-5 раз по сравнению с традиционным подходом, основанным на анализе разрозненных литературных источников и последующем эмпирическом подборе видов на объекте.

4.2. Апробация программного комплекса на производственном объекте – акт о внедрении от ПК «Модуль»

В ходе проведения научного исследования программный комплекс прошел апробацию в производственном кооперативе «Модуль» (ИНН: 1800027236), который является современной и динамично-развивающейся компанией, которая сконцентрирована на комплексном обслуживании помещений и озеленении территорий промышленных и некоммерческих объектов.

Акт о внедрении результатов диссертационной работы в производственную практику ПК «Модуль» представлен в **Приложении №2**.

Деятельность предприятия ПК «Модуль» ИНН:

Основной вид деятельности (по ОКВЭД):

81.10 – «Деятельность по комплексному обслуживанию помещений».

Дополнительные направления (всего около 12 видов деятельности):

01.61 – предоставление услуг в области растениеводства;

72.11 и 72.19 – научные исследования и разработки в области биотехнологии и в области естественных и технических наук;

81.30 – деятельность по благоустройству ландшафта.

Для нужд ПК «Модуль» и для достижения целей перед заказчиком «Х» (название компании-заказчика не может быть опубликовано в открытых источниках в связи с заключением договора о неразглашении данных) стояла следующая задача. Было необходимо в кратчайшие сроки провести комплексный

скрининг почвы на территории одного из промышленных предприятий в Удмуртской области для дальнейшего озеленения данной территории. Для подбора растений использовали программный комплекс «*PhytoRemediator*».

В ходе проведения биолого-химического анализа нескольких проб почвы на территории рядом с промышленным предприятием «Х» в Удмуртской области вблизи г. Ижевск было обнаружено превышение показателей содержания следующих ТМ в концентрациях:

- кадмий (Cd^{2+}) – до 5 мг/кг (x2,5 ПДК),
- никель (Ni^{2+}) – до 10 мг/кг (x2,5 ПДК),
- цинк (Zn^{2+}) – до 50 мг/кг (x2,2 ПДК).

Полученные данные свидетельствуют о систематической техногенной нагрузке на почвенный покров в зоне влияния предприятия. Основными источниками поступления ТМ в данном районе, согласно литературным данным, являются выбросы металлургических и машиностроительных производств, в том числе таких предприятий, как ОАО «Ижсталь», АО «Ижмаш» и др. Выявленные уровни загрязнения, хотя и не являются критическими для жизнедеятельности растений, создают потенциальный риск ухудшения экологической ситуации при возможном увеличении техногенной нагрузки, что подтверждает необходимость разработки и внедрения системы раннего обнаружения негативных изменений.

Для организации системного экологического мониторинга и оперативного выявления ухудшения обстановки на данном участке был задействован программный комплекс «*PhytoRemediator*», позволяющий подбирать виды растений-биоиндикаторов, чувствительных к увеличению концентраций поллютантов. Основная задача заключалась в подборе таких видов, которые при росте загрязнения проявляют выраженную стрессовую реакцию (хлороз, некроз, угнетение роста), что позволит своевременно сигнализировать об ухудшении экологической обстановки.

Работа с программным комплексом проводилась в соответствии с его алгоритмом. Для участка была выбрана почвенная среда, указан регион «Урал». В соответствии с почвенной картой региона и данными изысканий был выбран

тип почвы – «дерново-подзолистая (pH 5,5)», что определило использование коэффициента пересчёта « k » и pH-поправки « kpH », полученных экспериментально в серии IV диссертационного исследования.

На основе введенных данных программный комплекс выполнил расчёт почвенных пределов толерантности $LimP_s$ для каждого вида из базы данных. Затем для каждой пары «вид – поллютант» был вычислен индекс применимости по формуле 4.2. Для целей биоиндикации отбирались виды с ИП в диапазоне 100–150 %, то есть такие, у которых порог толерантности сопоставим с фактической концентрацией, что обеспечивает выраженную реакцию угнетения при незначительном увеличении загрязнения. Для отобранных видов был рассчитан коэффициент чувствительности « $K_{чувс}$ », показывающий, насколько сильно снижается ростовой показатель при увеличении концентрации поллютанта на 1 мг/кг, и выполнено ранжирование по убыванию « $K_{чувс}$ ».

По результатам расчетов для биоиндикации Cd, Ni и Zn программный комплекс рекомендовал следующие виды-биоиндикаторы: базилик – наиболее чувствительный вид к Cd^{2+} и Ni^{2+} ($LimP_H$ по Cd^{2+} = 40 мг/л, по Ni = 80 мг/л); кресс-салат – чувствителен к Zn^{2+} и Cd^{2+} ($LimP_H$ по Zn^{2+} = 460 мг/л); мятлик луговой – рекомендован как индикатор начальных стадий загрязнения ($LimP_H$ по Zn^{2+} = 115 мг/л); щавель – проявляет выраженную реакцию на Cd^{2+} и Ni^{2+} ($LimP_H$ по Cd^{2+} = 20 мг/л). Выбор этих видов обусловлен тем, что их пороги толерантности близки к выявленным концентрациям, и даже небольшое увеличение загрязнения вызовет у них видимые морфологические изменения (хлороз, некроз, угнетение роста), что позволит оперативно сигнализировать об ухудшении экологической обстановки.

Для организации системы раннего обнаружения ухудшения загрязнения рекомендован следующий порядок действий. На участке заложить 3–5 пробных площадок размером 1×1 м, на которых высадить рекомендованные виды-биоиндикаторы в начале вегетационного сезона. Проводить визуальный осмотр растений каждые 7–10 дней в течение вегетационного периода с фиксацией высоты побегов, окраски листьев, наличия хлороза и некроза. Один раз в месяц

отбирать образцы растений с каждой площадки для определения содержания ТМ в биомассе методом ААС и сравнения с фоновыми значениями. Сопоставлять полученные данные с пороговыми значениями *LimPs*; превышение концентраций ТМ в биомассе выше расчётных значений или появление визуальных признаков стресса служит сигналом для проведения внеочередного химического анализа почвы. При обнаружении устойчивого ухудшения состояния растений провести расширенный анализ почвы на содержание ТМ и принять решение о переходе к активным мероприятиям по рекультивации с использованием фитоэкстракторов.

Полученные с помощью программы рекомендации по видовому составу были сопоставлены с независимым экспертным заключением специалистов организации, подготовленным традиционным способом на основе анализа литературных источников и предшествующего практического опыта.

Совпадение рекомендованного видового состава составило не менее 77 %, при этом использование программного комплекса позволило сократить трудозатраты специалистов на этапе предпроектного подбора видов растений и формализовать процедуру обоснования выбора в проектной документации. Результаты апробации подтверждают практическую применимость разработанного программного комплекса как инструмента поддержки принятия решений при планировании биологического этапа рекультивации нарушенных земель в реальных производственных условиях.

Предложенная методология позволила ускорить срок проведения исследования по изучению толерантности растений к загрязненной ТМ почве и более быстрому подбору растений-фиторемедиантов для озеленения и использования в ландшафте. Это позволило значительно сократить временные затраты и с более высокой точностью подобрать необходимые виды растений для озеленения. Также данный программный комплекс и методология исследования диссертационной работы будет использоваться в научной и проектной деятельности ПК «Модуль». Комиссией ПК «Модуль» установлена

дата фактического внедрения результата исследования 11 сентября 2025 года.
Номер внутреннего приказа – 162 СТ от 11.09.2025 г. (*Приложение №2*).

4.3. Экономический анализ эффективности предлагаемого методологического подхода

Экономический анализ выполнен по двум направлениям: сравнение прямых затрат на определение фитотолерантности гидропонным и традиционным почвенным методом, а также оценка совокупного эффекта от применения программного комплекса «*PhytoRemediator*» при планировании биологического этапа рекультивации.

Технико-экономический расчёт показал, что стоимость проведения гидропонного скрининга (серия из шести тест-культур по трём–четырёх приоритетным поллютантам) составляет порядка 105 тыс. руб. против 79 тыс. руб. для аналогичного по охвату почвенного скрининга, то есть прямые материальные затраты на гидропонный скрининг выше на 25–30%. Данное увеличение прямых затрат объясняется необходимостью приобретения и обслуживания гидропонного оборудования (*установки периодического затопления, системы контроля pH и электропроводности, фитоламп полного спектра*), тогда как почвенный эксперимент использует более простую и доступную материальную базу. Вместе с тем гидропонный скрининг обеспечивает сокращение продолжительности эксперимента в 2,4–4,9 раза (*14–37 суток против 90–180 суток при почвенном мезокосмном эксперименте*) и снижение коэффициента вариации результатов с 250% до 10–15%. С учётом стоимости рабочего времени специалиста, привлекаемого на весь период эксперимента, а также стоимости повторных серий, неизбежных при высоком разбросе почвенных данных, совокупная экономическая эффективность гидропонного скрининга за счёт сокращения сроков и снижения числа необходимых повторов превышает прямую разницу в материальных затратах и обеспечивает более быстрый выход проекта рекультивации на стадию практической реализации.

Использование «*PhytoRemediator*» на этапе предпроектного подбора видов растений исключает необходимость проведения отдельного полевого или лабораторного исследования фитотолерантности для типовых условий загрязнения, уже представленных в базе данных комплекса (*11 регионов × 11 типов почв × 10 классов загрязнителей*), сокращая время принятия проектных решений в 2–3 раза. Формализованный экспорт отчёта в формате PDF снижает трудозатраты на подготовку раздела проектной документации, посвящённого обоснованию выбора видового состава для биологического этапа рекультивации, и минимизирует риск отклонения проектной документации при экспертизе вследствие недостаточной обоснованности выбора видов.

Экономическая эффективность применения разработанной методологии в целом определяется совокупностью трёх факторов:

1. сокращением сроков лабораторного определения фитотолерантности при переходе с почвенных на гидропонные методы;
2. снижением трудозатрат на подбор видов при использовании программного комплекса;
3. снижением риска неудачного выбора видов-фиторемедиантов на объекте вследствие использования верифицированных количественных данных вместо экспертной оценки.

Оценка проводилась по стандартной методике технико-экономического обоснования, включающей расчёт CAPEX, OPEX, годовой экономии на экологических платежах, чистого годового экономического эффекта (ЧГЭ) и срока окупаемости, адаптированной к условиям фиторемедиации загрязнённых почв [110, 111].

В качестве базового расчётного объекта выбран участок площадью 1 га в промышленной зоне Свердловской области. Фактические концентрации ТМ: Cd^{2+} – 25 мг/кг, Ni – 300 мг/кг, Zn – 1000 мг/кг. Глубина загрязнённого слоя 0,3 м, объёмная масса почвы 1350 кг/м³. Суммарная масса загрязнённой почвы составляет 4050 т.

Плата за сверхнормативное загрязнение почвы рассчитывалась по Постановлению Правительства РФ № 1332 от 03.11.2023 с применением повышающих коэффициентов (кратность превышения ПДК более 10-кратного – коэффициент 5, более 50-кратного – коэффициент 10). Ставка за размещение Cd-содержащих отходов I класса – 4703 руб./т, Ni (II класс) – 1327 руб./т, Zn (III класс) – 497 руб./т. Годовой платеж рассчитывается по формуле 4.9:

$$\Xi = (m(\text{Cd}) \times 4\,703 \times 10 + m(\text{Ni}) \times 1\,327 \times 5 + m(\text{Zn}) \times 497 \times 3) \times \eta \quad (4.9)$$

Где m – масса соответствующего металла в загрязненной почве (кг), η – доля превышения ПДК, формирующая платеж, коэффициент учета кратности. При суммарной массе загрязнителей Cd = 101 кг, Ni = 1 215 кг, Zn = 4 050 кг годовой платеж без рекультивации составит:

$$\Xi = 101 \times 4703 \times 10 + 1215 \times 1327 \times 5 + 4050 \times 497 \times 3 = 4\,750 \text{ тыс.} + 8\,061 \text{ тыс.} + 6\,040 \text{ тыс.} = 18\,851 \text{ тыс. руб./год}$$

Подробнее капитальные затраты на организацию фиторемедиации участка площадью 1 Га описаны в Таблице 4.2.

Таблица 4.2 – Капитальные затраты (CAPEX) на организацию фиторемедиации участка 1 га (горчица, 3 цикла в год)

Статья затрат	Ед. изм.	Кол-во	Сумма, руб.
Анализ почвы (исходный, ААС-метод)	компл.	1	95 000
Гидропонный скрининг фитотолерантности	серия	1	91 000
Подготовка участка (вспашка, известкование)	га	1	85 000
Семена горчицы сарептской	кг	50 кг	25 000
Посев механизированный (3 цикла)	Га	3	45 000
Уборка биомассы механизированная (3 цикла)	Га	3	60 000
Транспортировка биомассы (~12 т/год)	т	12	36 000
Пиролиз/захоронение Cd-содержащей биомассы	т	12	96 000
Мониторинг почвы ААС (3 замера/год)	компл.	1	55 000
Резерв непредвиденных расходов (10%)			59 300
ИТОГО CAPEX (первый год)			648 300
OREX (со 2-го года; без единовременных)			321 000/год

Стоимость гидропонного скрининга составила 91 тыс. руб. – исходя из прямых затрат серии IV. Пиролиз Cd-содержащей биомассы – от 8000 руб./т согласно актуальным ценам лицензированных предприятий по переработке токсичных биоотходов на Урале (2024 г.). Мониторинг ААС – $3 \times 18\,333 = 55\,000$ руб. в год.

Эффективность очистки горчицей при 3 циклах/год рассчитывается из установленных значений КБА и урожайности. Горчица (урожайность 4 т/га сухой биомассы $\times$ 3 цикла = 12 т/год) при КБА(Cd) = 14,6 мг/кг извлекает Cd (формула 4.10):

$$m \text{ (извлекаемого Cd)} = \frac{12\,000 \text{ кг} \times 14,6 \times C(\text{почва}) \text{ (мг/кг)}}{1\,000\,000} \quad (4.10)$$

При исходной концентрации Cd=25 мг/кг масса извлекаемого Cd составит:

$$12\,000 \times 14,6 \times 25 / 1\,000\,000 = 4,38 \text{ кг/год.}$$

Снижение концентрации за год: $4,38 \text{ кг} / 4050 \text{ т} = 1,08 \text{ мг/кг}$. К 5-му году концентрация Cd в почве снизится до $\approx 19,6 \text{ мг/кг}$, к 8-му году до $\approx 13,2 \text{ мг/кг}$, к 15-му году до $\approx 2 \text{ мг/кг}$.

По мере снижения концентрации Cd^{2+} уменьшаются экологические платежи. Для упрощения принимается средний уровень платежей в первые 7 лет – 60% от исходного уровня годового платежа (= 11 311 тыс. руб./год). Чистый годовой экономический эффект: (формула 4.11.):

$$\text{ЧГЭ} = \text{Э(год)} - \text{ОРЕХ} = 11\,311\,000 - 321\,000 = 10\,990\,000 \text{ руб./год} \quad (4.11)$$

Срок окупаемости при таком раскладе:

$$T(r) = \frac{\text{САРЕХ}}{\text{ЧГЭ}} = \frac{648\,300}{10\,990\,000} \approx 0,06 \text{ года} \approx 22 \text{ дня}$$

С учётом года до начала активного снижения концентрации реальный срок окупаемости составит $\approx 1\text{--}2$ месяца от начала работ. Короткий срок связан с тем, что экологические платежи уже в первый год компенсируют все САРЕХ.

Для объективности проведено сравнение фиторемедиации с тремя альтернативными технологиями очистки загрязнённых почв: физико-химической промывкой, термической десорбцией и заменой грунта (таблица

4.3). Параметры взяты из открытых прайс-листов российских экологических компаний (2024 г.) и литературных данных [112].

Таблица 4.3 – Сравнительный анализ методов рекультивации участка 1 га;

Метод	CAPEX, млн руб.	OPEX, млн руб./год	Срок очистки	Итого за срок, млн руб.	Нарушение экосистемы
Физ.-хим. промывка почвы	12,5	3,2	2–4 года	18,9–25,3	Высокое (вымывание биоты)
Термическая десорбция	28,0	5,5	1–2 года	33,5–39,0	Критическое (уничтожение биоты)
Замена грунта	18,0	0,5	0,5–1 год	18,25– 18,5	Критическое (полное уничтожение)
Фиторемедиация (горчица)	0,65	0,32	Более 7– 8 лет	2,89–3,21	Минимальное (восстановление биоты)

Фиторемедиация дешевле физико-химических методов в 6–12 раз по суммарным затратам. Единственный недостаток – более длительный срок полной очистки (более 7–15 лет против 1–4 лет для физических методов). Однако с учётом того, что экологические платежи прекращаются уже через 1–2 года после начала фиторемедиации (по мере снижения концентраций), реальная финансовая нагрузка на предприятие оказывается значительно ниже.

Традиционный предпроектный скрининг фитотолерантности с помощью полевых вегетационных опытов в почве на 50–60 суток обходится от 105 тыс. руб. за одну серию. Гидропонный скрининг по разработанной методологии – от 79 тыс. руб. при сокращении сроков до 21–37 суток. Удельная экономия на одном исследовании – от 25 тыс. руб.

С учётом разницы в сроках (сокращение на 53–143 суток на один объект) экономия для предприятий, платящих экологические штрафы весь период предпроектного исследования, составит дополнительно по несколько сотен тысяч рублей на каждый месяц ожидания.

Таблица 4.4 – Сравнительная стоимость скрининга фитотолерантности

Статья затрат	Почвенное исследование	Гидропонное исследование	Экономия / Увеличение затрат (руб.)
Субстрат и подготовка	Установки (8 шт.) Транспортировка почвы: 135 000 руб.	Г/п установки (8 шт.): 8*90 000= 720 000 Гидропонные растворы	

	Семена: 45 000 руб. Первичные инструменты (горшки, полив, освещение, климат-контроль, оборудования, обеззараживание, техника, вода для полива, реагенты и др.): 450 000 руб Базовое питание + внесение поллютантов + удобрения: 250 000 руб	(3л/мес. на 1 установку): $8 \times 12 \times 3 \times 1200 = 345\ 600$ Субстрат (мин. Вата) при расходе 2880 шт. (40*30 см) за 1 цикл, если циклов 8 = $2880 \times 8 \times 20p = 460\ 800$ Первичные инструменты (полив. система, освещение, климат-контроль, оборудован-ия и пр.): 460 000	Подорожание на 1 106 400
Энергопотребление (освещение, насосы)	60.000 руб. (Базовое освещение, климат-контроль = 1,15 кВт·ч)	120.000 руб. (Интенсивное освещение фитолампами, работа насосов, климат-контроль, освещение = 2,33 кВт·ч)	Подорожание на 60 000
Аренда	960.000 руб. (Расчет для 50 м² на 12 мес.)	480.000 руб. (Расчет на 12 мес.)	Экономия 480 000
Оплата персоналу (руб/год)	2 ст.*13 мес.*100.000 руб. = 2.600.000	1,5 ст.*13 мес*100.000 руб. = 2.050.000	Экономия 550 000
Аналитическое обслуживание	7 * 200.000 = 1 400 000 (Анализ почвы до/после, биомассы)	10 * 170.000 = 1 700 000 (Анализ раствора и биомассы растений)	Подорожание на 300 000
Стоимость закупки исследования сторонними компаниями (год)	1 цикл = 50-60 дней 1 год = 7 циклов 7*400.000 руб/исследование*8 установок = от 22.400.000	1 цикл = 30-35 дней 1 год = 10 циклов 10 *400.000*8 = от 32.000.000	дельта 6.000.000
Итого после налог. нагрузки (ср. знач)	-40% +13 440 000 руб/год	-40% +19 200 000	Итог дельта 5 760 000
Чистая прибыль (в год)	+7 550 000 руб	+12 865 000 руб.	Чистая годовая экономия: 5 315 000 руб.

4.4. Методологические рекомендации по внедрению результатов

На основе выполненного исследования разработаны методологические рекомендации по внедрению результатов диссертационной работы для

планирования биологического этапа рекультивации загрязнённых территорий и организации биоиндикационного мониторинга. Документ *«Методологические рекомендации по внедрению результатов диссертационной работы «Разработка методологического подхода для определения фитотолерантности к токсическому воздействию поллютантов с использованием гидропоники как модельной среды» для планирования биологического этапа рекультивации загрязнённых территорий и организации биоиндикационного мониторинга»* представлен в **Приложении №3**.

Рекомендации содержат пошаговое описание стандартизированной процедуры гидропонного эксперимента, включающее: подготовку растительного материала (отбор, калибровка, обеззараживание семян, проращивание); приготовление питательного раствора на хелатной основе и настройку гидропонной установки (температура 20–22 °С, освещённость 4000–6000 лк, фотопериод 16/8 ч, pH 6,5–7,2); моделирование техногенного загрязнения с формированием концентрационных рядов в два этапа (широкий скрининговый ряд и суженный точечный ряд); морфометрические измерения (высота, длина корня, визуальные признаки стресса) и химический анализ образцов (ААС для ТМ, ИК-спектрофотометрия и ГХ-МС для углеводов, МВАС-метод для ПАВ); расчёт токсикометрических показателей (КБА, КТ, $LimP_H$, коэффициент «k») и статистическую обработку.

Ключевые положения рекомендаций сводятся к следующему:

1. При определении предела толерантности необходимо соблюдать трёхкратную биологическую повторность с минимум 10 растениями на повтор и контролировать, чтобы коэффициент вариации результатов не превышал 20 %. При превышении этого порога серию повторяют.
2. Концентрационный ряд поллютантов следует формировать в два этапа: на первом этапе – широкий скрининговый ряд от $\times 1$ до $\times 200$ ПДК с шагом $\times 10$ ПДК для локализации зоны диагностически значимого отклика; на втором этапе – суженный точечный ряд с шагом $\times 5$ ПДК в узком диапазоне для точного определения $LimP_H$.

3. Химический анализ биомассы необходимо проводить дифференцированно по классам поллютантов.

4. Полученные значения $LimP_H$, КБА, КТ и коэффициента «k» подлежат внесению в базу данных программного комплекса «*PhytoRemediator*» в формате CSV для последующего автоматизированного использования при подборе видов.

Полный текст методологических рекомендаций с детализированным материально-техническим обеспечением, формами протоколов наблюдений, токсикометрических таблиц и пошаговой инструкцией работы с программным комплексом вынесен в Приложение к диссертации.

4.5. Выводы по Главе 4

1. Разработан и зарегистрирован программный комплекс «*PhytoRemediator*», реализованный в виде мобильного приложения для iOS и предназначенный для автоматизированного подбора растений-фиторемедиантов и биоиндикаторов на основе базы данных пределов фитотолерантности.

2. Сформирована база данных комплекса, включающая более 150 видов растений, 11 природно-климатических регионов РФ, 11 типов почв и 10 классов поллютантов, с экспериментальными значениями $LimP_H$, $LimP_S$, КБА, КТ и коэффициента «k» для каждой комбинации «вид – поллютант – тип почвы».

3. Алгоритм комплекса, основанный на расчёте индекса применимости и интегрального потенциала фитоэкстракции, позволяет отбирать виды с $ИП \geq 110 \%$, ранжировать их по эффективности и рассчитывать параметры рекультивации (число циклов посадки, биомассу, стоимость утилизации).

4. Апробация комплекса на производственном объекте ПК «Модуль» (Удмуртская область) подтвердила его практическую применимость: для участка с концентрациями Cd 5 мг/кг, Ni 10 мг/кг, Zn 50 мг/кг рекомендованы виды-биоиндикаторы (базилик, кресс-салат, мятлик луговой, щавель), а совпадение рекомендаций с экспертным заключением составило не менее 77%.

5. Экономический анализ показал, что гидропонный скрининг (79–105 тыс. руб., 14–38 суток) в 2,4–4,9 раза быстрее и при учёте трудозатрат экономически эффективнее почвенного метода (105 тыс. руб., 90–180 суток), а фиторемедиация горчицей на участке 1 га с САРЕХ 648 тыс. руб. окупается за 1–2 месяца за счёт сокращения экологических платежей и в 6–12 раз дешевле физико-химических альтернатив.

6. Разработаны методологические рекомендации по внедрению результатов диссертационной работы, включающие стандартизированную процедуру гидропонного эксперимента (подготовка семян, настройка установки, формирование концентрационных рядов, расчёт $LimP_H$ и коэффициента « k ») и инструкцию по работе с программным комплексом «*PhytoRemediator*».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данное диссертационное исследование представляет законченную научно-квалификационную работу по научной специальности 1.5.15 «Экология» (технические науки). В работе изложены новые научно обоснованные технические и технологические решения, имеющие существенное значение для очистки территорий, загрязнённых поллютантами различного генезиса (ТМ, углеводороды, ПАВ), поступающими от горнодобывающих и нефтегазовых предприятий.

Предложена методология экспресс-скрининга фитотолерантности растений с использованием гидропоники как контролируемой модельной среды, а также разработан программный комплекс «*PhytoRemediator*» для автоматизированного подбора растений-фиторемедиантов и биоиндикаторов с учётом типа почвы, природно-климатического региона и уровня загрязнения. Это направлено на минимизацию техногенного воздействия промышленных предприятий на окружающую среду и научное обоснование биологического этапа рекультивации нарушенных земель.

В результате проведения исследования получены следующие выводы:

1. Обоснована необходимость разработки новой методологической платформы на основе гидропоники как модельной среды. Применение гидропоники позволяет снизить коэффициент вариации результатов с 250% до 15% и сократить длительность эксперимента до 14–38 суток.

2. Разработана, протестирована и внедрена методология гидропонного эксперимента, включающая оценку толерантности через $LimP_H$ и перенос результатов в полевые условия через коэффициент пересчёта « k ». Разработанный гидропонный раствор на хелатной основе обеспечил прирост биомассы кресс-салата на $40\pm4\%$, дайкона – на $42\pm7\%$ и стабильный pH ($6,0\pm0,4$ против $7,0\pm0,5$ у GHE), что подтверждает его пригодность для токсикологических экспериментов.

3. Проведена серия экспериментов для 8 тест-культур по 6 типам поллютантов. Впервые получены количественные значения $LimP_H$ для кресс-салата, горчицы, мятлика, щавеля, томата и базилика по Cd, Ni, Zn, Hg, ПАВ и углеводородам. Горчица сарептская проявила наивысшую толерантность: $LimP_H (Cd^{2+}) = 60$ мг/л, $LimP_H (Ni^{2+}) = 40$ мг/л, $LimP_H (Zn^{2+}) = 690$ мг/л, $LimP_H (Hg^{2+}) = 105$ мг/л, и рекомендована как фитоэкстрактор (КБА = 14,6–19,8, КТ = 2,8–3,4); базилик и кресс-салат с КТ < 1 – как биоиндикаторы.

4. Введён коэффициент « k » (0,66–4 л/кг), позволяющий переводить гидропонные значения $LimP_H$ в почвенные $LimP_S$. Корреляционный анализ 60 пар значений выявил статистически значимую связь ($r = 0,89$, $p < 0,01$), что обеспечивает прогнозирование полевых значений с погрешностью $\pm 25\%$.

5. Добавление 1 мМ ЭДТА смещает $LimP_H$ в среднем на 35–40%, повышает КБА по Cd на 32–46% (горчица – с 14,6 до 19,8, томат – с 11,4 до 16,6) и КТ на 0,2–0,8 ед. Сортировка видов по толерантности не изменяется.

6. Разработан и зарегистрирован программный комплекс «*PhytoRemediator*», содержащий базу данных 150+ видов, 11 регионов, 11 типов почв и 10 классов поллютантов. Алгоритм рассчитывает индекс применимости (ИП $\geq 110\%$) и подбирает виды по потенциалу фитоэкстракции с расчётом циклов посадки, биомассы и стоимости утилизации.

7. Экономический анализ показал, что гидропонный скрининг (79–105 тыс. руб., 14–38 суток) в 2,4–4,9 раза быстрее почвенного метода. Фиторемедиация горчицей на участке 1 га с САРЕХ 648 тыс. руб. окупается за 1–2 месяца и в 6–12 раз дешевле физико-химических альтернатив.

8. Разработаны методологические рекомендации по внедрению результатов работы, включающие стандартизированную процедуру гидропонного эксперимента и инструкцию по работе с программным комплексом. Рекомендации и комплекс внедрены в деятельность ПК «Модуль» (акт от 12.11.2025), совпадение рекомендаций с экспертным заключением

составило не менее 75%. Материалы диссертации использованы в просветительских лекциях ProАгроЛекторий от ПАО «ФосАгро».

В результате проведенного исследования была достигнута его цель: разработана и экспериментально обоснована комплексная методология оценки фитотолерантности растений к токсическому воздействию поллютантов с использованием гидропоники в качестве стандартизированной модельной среды для задач биологической рекультивации загрязнённых территорий и организации биоиндикационного мониторинга.

Полученные результаты носят как прикладной, так и фундаментальный характер. Прикладное значение работы подтверждается актом о внедрении на базе производственного кооператива «Модуль», свидетельством о регистрации программного комплекса «*PhytoRemediator*» и разработанными методологическими рекомендациями. Материалы диссертации нашли применение в просветительских лекциях и учебных курсах.

Последующие исследования в данной области могут быть связаны с расширением базы данных программного комплекса за счёт новых видов растений-фиторемедиантов, а также с разработкой методологии для объектов с поликомпонентным загрязнением и учётом синергетических эффектов поллютантов различной природы.

СПИСОК ТЕРМИНОВ

Абиотические факторы – компоненты неживой природы (температура, pH, освещённость, влажность, электропроводность среды и др.), воздействующие на рост, развитие и толерантность растительных организмов; в настоящей работе рассматриваются как управляемые параметры гидропонного эксперимента и как факторы, модулирующие предел толерантности.

Биоиндикационный мониторинг – система наблюдения за состоянием окружающей среды, основанная на регистрации реакций живых организмов (биоиндикаторов) на антропогенное воздействие и позволяющая оценивать уровень загрязнения территории без сплошного химического анализа проб.

Биоиндикатор – организм (в контексте настоящей работы – вид высшего растения), состояние или реакция которого используется для оценки качества окружающей среды и уровня её загрязнения без проведения прямого химического анализа.

Биологический этап рекультивации – завершающая стадия рекультивации нарушенных земель, следующая за техническим этапом и включающая восстановление растительного покрова (посев трав, посадку древесно-кустарниковой растительности, агротехнические и агрохимические мероприятия) с учётом фитотолерантности применяемых видов к остаточному загрязнению почвы.

Высшие растения – растения, имеющие дифференцированные органы (корень, стебель, лист) и развитую сосудистую систему; в настоящей работе – восемь модельных видов, использованных в качестве тест-культур.

Газовая хромато-масс-спектрометрия (ГХ-МС) – аналитический метод, сочетающий разделение компонентов смеси методом газовой хроматографии с последующей идентификацией по масс-спектрам; в настоящей работе применён для определения и подтверждения содержания высокомолекулярных углеводов в растворах и биомассе [113].

Гидропонный питательный раствор – водный раствор макро- и микроэлементов, обеспечивающий минеральное питание растений при

выращивании без почвы; в токсикологических экспериментах к его составу предъявляется дополнительное требование химической инертности по отношению к вносимым поллютантам.

Гидропоника – способ выращивания растений без использования почвы, при котором корневая система получает питательные вещества из питательного раствора минеральных солей, растворенных в воде; в настоящей работе используется как контролируемая модельная среда для определения пределов толерантности растений.

ГОСТ Р 70575 – национальный стандарт «Продукция растениеводства, выращенная методом гидропонии. Технические условия», регламентирующий общие требования к организации гидропонного культивирования растений; применён в настоящей работе при построении методологии стандартизированных методов культивирования тест-культур.

ГОСТ Р ИСО 17616 – национальный стандарт «Качество почвы. Руководство по выбору и оценке биотестов для экотоксикологической оценки почв и почвенных материалов», устанавливающий критерии выбора тест-организмов и биотестов в зависимости от типа предполагаемого загрязнения; не содержит количественных пороговых значений фитотолерантности для конкретных видов и поллютантов.

ГОСТ Р ИСО 22030 – национальный стандарт «Качество почвы. Биологические методы. Хроническая токсичность в отношении высших растений», регламентирующий общие требования к протоколу вегетационного эксперимента по оценке фитотоксичности почв.

Дозозависимый отклик (концепция «концентрация–эффект») – фундаментальный принцип токсикологии, согласно которому выраженность ответной реакции организма находится в прямой зависимости от концентрации (дозы) действующего агента.

ЕКО (ёмкость катионного обмена) – показатель способности почвы удерживать и обменивать катионы, влияющий на биодоступность тяжёлых металлов.

Живые организмы – в контексте паспорта научной специальности 1.5.15 – общий термин, обозначающий биологические объекты (включая высшие растения), на которые распространяется воздействие абиотических факторов технологических процессов и продукции нефтегазовой и горнодобывающей отраслей.

Зона угнетения – диапазон концентраций от $LimP_H$ до EC_{100} , в пределах которого эффект нарастает от 50% до 100%, и растение прогрессирующе теряет жизнеспособность вплоть до полной гибели.

ИК-спектрофотометрия – метод анализа, основанный на измерении поглощения инфракрасного излучения веществом; применён в настоящей работе для определения содержания высокомолекулярных углеводов в растворах и биологических образцах.

Интенсивность жизнедеятельности – интегральный физиологический показатель, отражающий активность роста и функционирования растения при данной концентрации поллютанта; по сути, это обратное отображение эффекта, показывающее не «насколько растению плохо», а «насколько растение живо и продуктивно».

Коэффициент биоаккумуляции (КБА) – отношение концентрации поллютанта в биомассе растения к его концентрации в субстрате (питательном растворе или почве); $КБА > 1$ характеризует растение как биоаккумулятор.

Коэффициент пересчёта «k» – эмпирический коэффициент, устанавливающий соотношение между пределом толерантности, определённым в почвенной среде ($LimP_s$), и пределом толерантности, определённым в гидропонной среде ($LimP_H$): $LimP_s = k \times LimP_H$.

Коэффициент транслокации (КТ) – отношение концентрации поллютанта в надземной части растения к его концентрации в корневой системе; $КТ > 1$ указывает на стратегию фитоэкстракции, $КТ < 1$ – на стратегию фитостабилизации.

$LimP$ (предел толерантности) – концентрация поллютанта в среде, при которой наблюдается 50%-е угнетение целевого морфометрического показателя

(роста, биомассы) либо 50%-я гибель тест-растений относительно контроля. $LimP_H$ – предел толерантности, определённый в гидропонных условиях; $LimP_s$ – предел толерантности, определённый в почвенных условиях.

МВАС-метод (Methylene Blue Active Substances) – метод определения содержания анионных поверхностно-активных веществ в водных растворах, основанный на образовании и фотометрическом измерении окрашенного комплекса ПАВ с метиленовым голубым.

Методология – система принципов, методов и приёмов, используемых для организации и построения научного исследования; в настоящей работе – совокупность подходов к постановке гидропонного эксперимента, определению пределов толерантности и расчёту коэффициента пересчёта на почвенные условия.

Морфометрические параметры – количественные показатели, характеризующие рост и развитие растения (высота надземной части, длина корня, площадь листовой поверхности, сырая и сухая биомасса и др.), регистрируемые в ходе вегетационного эксперимента для оценки фитотоксического эффекта.

Нефтепроизводные (высокомолекулярные углеводороды) – смесь алифатических, ациклических и полициклических углеводородных соединений, характерная для загрязнения почв в зонах нефтедобычи и нефтепереработки.

ОДК – ориентировочно допустимая концентрация химического вещества в почве.

ПАВ (поверхностно-активные вещества) – химические соединения, снижающие поверхностное натяжение на границе раздела фаз; в настоящей работе рассматриваются анионные ПАВ (алкилбензолсульфонаты) как приоритетный органический поллютант нефтегазовой отрасли.

ПДК – предельно допустимая концентрация химического вещества в почве, воде, воздухе.

Поллютант (загрязняющее вещество, ЗВ) – загрязняющее вещество техногенного происхождения, поступающее в окружающую среду в количествах, способных вызвать негативные экологические последствия.

Полная гибель растений – состояние, регистрируемое при эффекте 100%; определяется визуально (отсутствие живых растений в повторности) и подтверждается отсутствием прироста биомассы к финальной точке измерения.

Продукция и побочные продукты нефтегазовой отрасли – товарные и сопутствующие вещества, образующиеся при добыче, транспортировке и первичной переработке нефти и газа (в том числе высокомолекулярные углеводороды и технологические жидкости с анионными ПАВ), рассматриваемые в настоящей работе как источник техногенного воздействия на живые организмы.

Промышленные объекты горнодобывающей промышленности – предприятия и производственные площадки по добыче и первичной переработке руд, являющиеся источником систематического поступления тяжёлых металлов в почвенную среду и оказывающие комплексное воздействие на природные и искусственные экосистемы прилегающих территорий [114].

Растения-фиторемедианты – виды высших растений, обладающие достаточной фитотолерантностью и способностью к накоплению поллютантов в биомассе, вследствие чего пригодные для практического применения на биологическом этапе рекультивации загрязнённых земель.

Рекультивация земель – комплекс мероприятий, направленных на восстановление продуктивности и хозяйственной ценности нарушенных земель, а также на улучшение состояния окружающей среды; включает технический и биологический этапы.

Системный экологический мониторинг (принципы и механизмы) – организованное на регулярной основе наблюдение за состоянием природных и искусственных экосистем в зоне влияния промышленных объектов, объединяющее методы прямого химического анализа и биоиндикационных наблюдений для комплексной оценки антропогенного воздействия.

Сорбционная ёмкость почвы – способность почвы удерживать ионы поллютантов на поверхности минеральных и органических коллоидов, снижая их подвижность и биодоступность для растений; один из ключевых неконтролируемых факторов, искажающих результаты.

Толерантность (устойчивость) – способность организма переносить воздействие поллютанта без развития необратимых токсических эффектов и без критической потери жизнеспособности.

ТМ (тяжёлые металлы) – группа химических элементов (в контексте настоящей работы – Cd^{2+} , Ni^2 , Zn^{2+} , Hg^{2+}), обладающих выраженной фитотоксичностью при превышении пороговых концентраций.

Техногенное загрязнение – поступление в окружающую среду веществ и соединений в результате производственной деятельности человека в количествах, превышающих естественный геохимический фон и способных вызывать негативные экологические последствия.

Уравнение Хилла – математическая модель, описывающая сигмоидальную зависимость биологического эффекта от концентрации воздействующего агента; используется для аппроксимации кривых «доза–эффект» и определения LimP_H .

Фиторемедиация – метод биологической очистки загрязнённых почв и водоёмов с использованием растений для извлечения, иммобилизации или трансформации поллютантов.

Фитотолерантность – интегральное свойство растения, характеризующее его способность сохранять жизнеспособность, рост и репродуктивную функцию в условиях токсического воздействия поллютантов; количественно выражается через предел толерантности (LimP).

Фитотоксичность – способность химического вещества оказывать повреждающее воздействие на растительный организм.

Эффект (%) – интегральный количественный показатель фитотоксического отклика, приведённый к единой процентной шкале относительно контроля. В его расчёт закладывается совокупность регистрируемых параметров (снижение биомассы, угнетение роста, доля

погибших растений), объединённых в единый показатель, где 0% соответствует контролю, а 100% – полной гибели тест-культуры.

ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота) – синтетический хелатирующий агент, применяемый для связывания ионов ТМ в растворимые комплексы; в настоящей работе исследовано влияние на смещение $LimP_H$.

GHE (*General Hydroponics Europe, Франция*) – коммерческий бренд питательных растворов для гидропонных систем, использованный в качестве контрольного (сравнительного) состава в серии I экспериментов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ААС - атомно-абсорбционная спектрометрия;

CAPEX - капитальные затраты;

EC₅₀ - эффективная концентрация, вызывающая 50%-ю гибель растения по сравнению с контролем;

EC₁₀ - эффективная концентрация, вызывающая 10%-е ингибирование;

ГОСТ - государственный стандарт Российской Федерации;

ГН - гигиенические нормативы;

iOS - операционная система мобильных устройств Apple Inc.;

MVVM - Model–View–View Model, архитектурный паттерн программирования;

ОРЕХ - операционные (эксплуатационные) расходы [115];

ОПР - относительный показатель роста, % от контроля [115];

ПАВ - поверхностно-активные вещества [115];

ПДК - предельно допустимая концентрация [115];

ТМ - тяжелые металлы [115];

ЧГЭ - чистый годовой экономический эффект [115];

ЭС - электропроводность раствора, мСм/см;

ЭДТА - этилендиаминтетрауксусная кислота;

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Германова, С. Е. Экологические аспекты воздействия объектов нефтяной отрасли на состояние земель в России / С. Е. Германова, В. Г. Плющиков, Н. Б. Самброс [и др.] // МСХ. – 2021. – № 4.
2. Рафиков, С. Ш. Влияние предприятий горнорудной промышленности на состояние окружающей среды и здоровье населения (обзор литературы) / С. Ш. Рафиков, Р. А. Сулейманов, Т. К. Валеев [и др.] // Медицина труда и экология человека. – 2021. – № 3 (27).
3. Медведев, И. Ф. Тяжелые металлы в экосистемах / И. Ф. Медведев, С. С. Деревягин. – Саратов: ООО «Ракурс», 2017. – 178 с. – ISBN 978-5-9758-1665-8. – EDN ZUOCLR.
4. Воронина, Л. П. К нормированию кадмия в почве по его воздействию на растения / Л. П. Воронина, К. Э. Поногайбо, Е. Г. Абрамов [и др.] // Гигиена и санитария. – 2023.
5. Розенцвет, О. А. Аккумуляция меди и ее влияние на метаболизм белков, липидов и фотосинтетических пигментов в листьях «*Potamogeton perfoliatus*» L. / О. А. Розенцвет, С. В. Мурзаева, И. А. Гущина // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2003. – № 2.
6. Безуглова, О. С. Экобиомониторинг почв: учебное пособие / О. С. Безуглова. – Ростов-на-Дону – Таганрог: Издательство Южного федерального университета, 2024.
7. Загрязнение почв Российской Федерации токсикантами промышленного происхождения в 2023 году : ежегодник / Министерство природных ресурсов и экологии Российской Федерации, Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды, ФГБУ «Научно-производственное объединение «Тайфун», Институт проблем мониторинга окружающей среды (ИПМ). – Обнинск, 2024. – 128 с.
8. Басиков, А. Г. Пылевые выбросы медно-никелевого производства и последствия их воздействия на организм человека в условиях Крайнего Севера / А. Г. Басиков // Вестник Кольского научного центра РАН. – 2017. – № 4.
9. Загрязнение почв Российской Федерации токсикантами промышленного происхождения в 2023 году : ежегодник / Министерство природных ресурсов и экологии Российской Федерации, Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды, ФГБУ «Научно-производственное объединение «Тайфун», Институт проблем мониторинга окружающей среды (ИПМ). – Обнинск, 2024. – 128 с.
10. Деркач, С. Р. Использование ПАВ для интенсификации нефтедобычи при первичном и вторичном вскрытии пластов / С. Р. Деркач, Г. И. Берестова, Т. А. Мотылева // Вестник МГТУ. – 2010. – № 4-1.
11. Эмирова, Д. Э. Сравнительный анализ фитотоксического действия пестицида Би-58 на сельскохозяйственные культуры / Д. Э. Эмирова // Ученые

записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия. – 2009. – № 4 (61).

12. Руденко, Е. Ю. Биологическая ремедиация нефтезагрязненных почв / Е. Ю. Руденко // АЭЭ. – 2012. – № 5-6.

13. Исакова, Е. А. Особенности воздействия нефти и нефтепродуктов на почвенную биоту / Е. А. Исакова // Colloquium-journal. – 2019. – № 12 (36).

14. Фролова, Ю. А. Анализ загрязнения акватории Черного моря нефтепродуктами / Ю. А. Фролова, Е. С. Кулакова // Мелиорация и водное хозяйство. Пути повышения эффективности и экологической безопасности мелиораций земель Юга России: материалы Всероссийской научно-практической конференции (Новочеркасск, 07–24 ноября 2017 г.). Вып. 15, ч. 2 / Новочеркасский инженерно-мелиоративный институт им. А. К. Кортунова; ФГБОУ ВО Донской ГАУ. – Новочеркасск: ООО «Лик», 2017. – С. 186–193. – EDN YOKIER.

15. Побилат, А. Е. Микроэлементы в сельскохозяйственных растениях / А. Е. Побилат, Е. И. Волошин // Микроэлементы в медицине. – 2021. – Т. 22, № 3. – С. 3–14.

16. Титов, А. Ф. Тяжелые металлы и растения / А. Ф. Титов, Н. М. Казнина, В. В. Таланова. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2014. – 4 с.

17. Серегин, И. В. Передвижение ионов кадмия и свинца по тканям корня / И. В. Серегин, В. Б. Иванов // Физиология растений. – 1998. – Т. 45. – С. 899–905.

18. Kumar, P. Heavy metal toxicity in plants and phytoremediation / P. Kumar [et al.] // Environmental Science and Pollution Research. – 2021. – Vol. 28. – P. 12945–12962.

19. Титов, А. Ф. Физиологические основы устойчивости растений к тяжелым металлам: учебное пособие / А. Ф. Титов, В. В. Таланова, Н. М. Казнина ; Институт биологии КарНЦ РАН. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2011. – 77 с. – ISBN 978-5-9274-0491-9.

20. Хозеева, Е. В. Окислительный стресс растений: химия, физиология, способы защиты / Е. В. Хозеева, Ю. А. Зимина, Г. А. Срослова // Природные системы и ресурсы. – 2020. – № 4.

21. Koppenol, W. H. The centennial of the Fenton reaction / W. H. Koppenol // Free Radical Biology and Medicine. – 1993. – Vol. 15, No. 6. – P. 645–651. – DOI 10.1016/0891-5849(93)90168-t. – PMID 8138191.

22. Пожилова, Е. В. Активные формы кислорода в физиологии и патологии клетки / Е. В. Пожилова, В. Е. Новиков, О. С. Левченкова // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2015. – № 2.

23. Дзугкоев, С. Г. Механизмы развития токсических эффектов ионов кадмия / С. Г. Дзугкоев, Ф. С. Дзугкоева, В. А. Гадиева // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2025. – № 4.

24. Багаева, Т. В. Микробиологическая ремедиация природных систем от тяжелых металлов / Т. В. Багаева, Н. Э. ИONOва, Г. В. Надеева. – Казань: Казанский федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, 2013. – 56 с.
25. Baker, A. J. M. Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants / A. J. M. Baker, P. M. Walker // *Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects*. – Boca Raton: CRC Press, 1990. – P. 155–177.
26. Al Mutairi, A. The effect of zinc fertilisation and arbuscular mycorrhizal fungi on grain quality and yield of contrasting barley cultivars / A. Al Mutairi, T. R. Cavagnaro, S. F. Khor [et al.] // *Functional Plant Biology*. – 2020. – Vol. 47. – P. 122–133. – DOI 10.1071/FP19220.
27. Полиефтова, А. П. Адсорбция и фитотоксичность поверхностно-активных веществ в растворах и сточных водах / А. П. Полиефтова, В. А. Волков, Н. И. Миташова // *Евразийский Союз Ученых*. – 2015. – № 4-13 (13).
28. Wang, L. Surfactant induces ROS-mediated cell membrane permeabilization for the enhancement of mannate production / L. Wang, Y. Sha, D. Wu [et al.] // *Process Biochemistry*. – 2020. – Vol. 91. – P. 172–180. – DOI 10.1016/j.procbio.2019.12.009.
29. Назаров, А. В. Влияние нефтяного загрязнения почвы на растения / А. В. Назаров // *Вестник ПГУ. Биология*. – 2007. – № 5.
30. Халилова, А. Ф. Влияние азотного питания на вегетацию кукурузы на загрязненном алифатическим углеводородом выщелоченном черноземе / А. Ф. Халилова, А. П. Денисова, И. П. Бреус // *Ученые записки Казанского государственного университета. Сер. Естественные науки*. – 2009. – Т. 151, кн. 3.
31. Kaimi, E. Effect of rhizodegradation in diesel-contaminated soil under different soil conditions / E. Kaimi, T. Mukaidni, M. Tamaki // *Plant Production Science*. – 2007. – Vol. 10, No. 1. – P. 105–111.
32. Ганеева, Л. А. Биохимия: практикум / Л. А. Ганеева, Л. И. Зайнуллин, З. И. Абрамова, Н. Х. Тенишева. – Казань, 2016. – УДК 577.11:577.12.
33. Веселовский, В. А. Биотестирование загрязнения среды нефтью по реакции фотосинтетического аппарата растений / В. А. Веселовский, В. С. Вшивцев // *Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем: сб. ст.* – М.: Наука, 1988. – С. 99–112.
34. Домрачева, Л. И. Использование организмов и биосистем в ремедиации территорий / Л. И. Домрачева // *Теоретическая и прикладная экология*. – 2009. – № 4. – С. 4–16. – EDN KZTIHP.
35. Peralta-Videa, J. R. The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: Implications for the food chain / J. R. Peralta-Videa, M. L. Lopez, M. Narayana [et al.] // *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. – 2009. – Vol. 41. – P. 1665–1677.
36. Серегин, И. В. Функционально-анатомическое изучение распределения и токсического действия тяжелых металлов и стронция на рост проростков

кукурузы / И. В. Серегин, А. Д. Кожевникова, Е. И. Быстрова [и др.] // Труды Международной конференции «Физиологические и молекулярно-генетические аспекты сохранения биоразнообразия». – Вологда, 2005. – С. 154.

37. Seregin, I. V. Transport and distribution of Nickel in higher plants / I. V. Seregin, A. D. Kozhevnikova // Nickel in Relation to Plants / ed. Barkat Ali, S. Hayat, A. Ahmad. – New Delhi: Narosa Publishing House, 2008. – 200 p.

38. Yang, Y. Interaction between the catalytic and modifier subunits of glutamate-cysteine ligase / Y. Yang, Y. Chen, E. Johansson [et al.] // Biochemical Pharmacology. – 2007. – Vol. 74, No. 2. – P. 372–381.

39. Торгашкова, О. Н. Влияние поверхностно-активных веществ на прорастание семян и рост растений / О. Н. Торгашкова, Е. Н. Никифорова, А. С. Беликов // Евразийский Союз Ученых. – 2018. – № 3-3 (48).

40. Поклонов, В. А. Токсическое воздействие органических ксенобиотиков на три вида высших водных растений / В. А. Поклонов // Вода: химия и экология. – 2017. – № 8. – С. 88–93.

41. Гончарова, Н. В. Фиторемедиация: новая стратегия использования растений для очистки почвенного покрова / Н. В. Гончарова // Экологический вестник. – 2010. – № 4. – С. 14.

42. Бекузарова, С. А. Клевер – биоиндикатор тяжелых металлов / С. А. Бекузарова, И. А. Шабанова // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2014. – Т. 51, № 3. – С. 297–301.

43. Дрогайцева, А. А. Накопление тяжёлых металлов в экосистеме «почва–растения» «*Melampyrum arvense*» L. степной зоны Оренбургского Предуралья / А. А. Дрогайцева, Г. В. Петрова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2014. – № 6 (50).

44. Немерешина, О. Н. Некоторые аспекты адаптации «*Polygonum aviculare*» L. к загрязнению почвы тяжёлыми металлами / О. Н. Немерешина [и др.] // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2012. – Т. 33, № 1-1. – С. 230–234.

45. Харитонов, А. Э. Использование фиторемедиации для очистки почв и водоёмов от тяжёлых металлов / А. Э. Харитонов, А. Н. Федосеев // Успехи в химии и химической технологии. – 2022. – Т. 36. – С. 39–41.

46. Харитонов, А. Э. Использование фитоэкстракции для очистки загрязнённых ртутью почв / А. Э. Харитонов // Актуальные проблемы недропользования : XVIII Международный форум-конкурс студентов и молодых ученых (Санкт-Петербург, 15–21 мая 2022 г.) : тезисы докладов. – Санкт-Петербург: РИЦ Санкт-Петербургского горного университета, 2022. – Т. 3. – С. 205–207.

47. Гераськин, С. А. Закономерности формирования биологических эффектов (E. Calabrese dose effect) / С. А. Гераськин.

48. Березин, И. И. Формула для построения кривой «доза–эффект» / И. И. Березин, В. В. Сучков // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2014. – Т. 16, № 5-5. – С. 1790–1792.
49. Roymans, D. Binding of a potent small-molecule inhibitor of six-helix bundle formation requires interactions with both heptad-repeats of the RSV fusion protein / D. Roymans [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2010. – Vol. 107, No. 1. – P. 308–313.
50. Noel, Z. A. Significant influence of EC50 estimation by model choice and EC50 type / Z. A. Noel, J. Wang, M. I. Chilvers // Plant Disease. – 2018. – Vol. 102, No. 4. – P. 708–714.
51. Масленников, П. В. Аккумуляция металлов в растениях урбоэкосистем / П. В. Масленников, В. П. Дедков, М. В. Куркина [и др.] // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. Серия: Естественные и медицинские науки. – 2015. – № 7.
52. Мамбетов, Э. М. Концепция гидропоники. Основные гидропонные системы / Э. М. Мамбетов // Перспективы науки и общества в условиях инновационного развития. – 2021. – С. 84–86.
53. Товстик, Е. В. Адаптивный потенциал ячменя при токсичном воздействии кадмия в различных условиях оценки / Е. В. Товстик [и др.] // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 2025. – Т. 186, № 2. – С. 128–137.
54. Харитонов, А. Э. Анализ производства и использования гидропонных растворов с применением микроэлементов в хелатирующей форме / А. Э. Харитонов, К. В. Пищаева, С. А. Мурадян // Успехи в химии и химической технологии. – 2023. – Т. 37, № 3 (265). – С. 16–18.
55. Пищаева, К. В. Способ получения концентрата питательного состава для выращивания сельскохозяйственных культур в гидропонных системах: пат. 2808836 С1 Рос. Федерация / К. В. Пищаева, С. А. Мурадян; заявл. 13.03.2023; опубл. 05.12.2023. – 8 с.
56. Trejo-Téllez, L. I. Nutrient solutions for hydroponic systems / L. I. Trejo-Téllez, F. C. Gómez-Merino // Hydroponics – a standard methodology for plant biological researches. – 2012. – Vol. 1. – P. 1–22.
57. Харитонов, А. Э. Ecological and methodological foundations of the system of conservation of natural ecosystems, the system of protection of biotopes from degradation and pollution by pollutants / A. E. Kharitonov, A. S. Makarova, E. Velieva // BIO Web of Conferences. – 2025. – Vol. 160 (EESTE2024). – Article 02020. – DOI.
58. Круглов, Ю. В. Микробное сообщество почвы: физиологическое разнообразие и методы исследования / Ю. В. Круглов // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – № 1.
59. Sparling, D. W. Ecotoxicology essentials: environmental contaminants and their biological effects on animals and plants / D. W. Sparling. – London: Academic Press, 2016.

60. Roose, T. Mathematical models of plant–soil interaction / T. Roose, A. Schnepf // *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. – 2008. – Vol. 366, No. 1885. – P. 4597–4611.

61. Xu, J. Effect of humic acid addition on buffering capacity and nutrient storage capacity of soilless substrates / J. Xu [et al.] // *Frontiers in Plant Science*. – 2021. – Vol. 12. – Article 644229.

62. Torabi, M. The role of hydroponics technique as a standard methodology in various aspects of plant biology researches / M. Torabi, A. Mokhtarzadeh, M. Mahlooji // *Hydroponics – a standard methodology for plant biological researches*. – 2012. – P. 113–134.

63. Kharitonov, A. E. The methodology of using hydroponics to calculate the influence of anthropogenic and abiotic factors of technological processes, products of the oil and gas industry on plants in laboratory conditions / A. E. Kharitonov, A. S. Makarova // *Международный молодежный форум «Россия–Африка: ядерное образование как потенциал для успешного развития региона»: сборник трудов*. – М.: РУДН, 2025. – Т. 1. – С. 29.

64. Гаврилин, И. И. Перспективы использования биоиндикационных методов исследования при оценке фитотоксичности нефтезагрязненных почв / И. И. Гаврилин, А. М. Шигапов // *Вестник КрасГАУ*. – 2015. – № 10.

65. Харитонов, А. Э. Методика использования гидропоники для просчета влияния антропогенных и абиотических факторов технологических процессов, продуктов нефтегазовой отрасли на растения в лабораторных условиях / А. Э. Харитонов, А. С. Макарова // *Образование и наука для устойчивого развития : материалы XVI Международной научно-практической конференции, посвящённой 300-летию Российской академии наук*. – М.: РХТУ им. Д. И. Менделеева, 2024. – С. 178–181.

66. Жакова, В. А. Оценка загрязненности почвы с помощью кресс-салата / В. А. Жакова, Н. В. Вельяминова, Е. Н. Потылицына. – С. 24.

67. Репкина, Н. С. Фиторемедиационный потенциал двух видов семейства «Brassicaceae» / Н. С. Репкина, Н. М. Казнина // *Международный журнал гуманитарных и естественных наук*. – 2022. – № 11-1. – С. 38–42.

68. Mahmoudzadeh, M. Phytoremediation using «Poa pratensis» balin lawn and sludge in Mashad industrial town treatment plant / M. Mahmoudzadeh [et al.] // *ПОАВ Journal*. – 2016. – Vol. 7, No. 1. – P. 224–231.

69. Твердова, А. В. Использование фитоиндикаторов для оценки качества почв / А. В. Твердова, М. В. Лосева. – 2022. – С. 42.

70. Вершинина, З. Р. Перспективы использования томатов, трансформированных «РРН6», в биоремедиации / З. Р. Вершинина, Л. Р. Хакимова, О. В. Чубукова // *Актуальная биотехнология*. – 2021. – № 1. – С. 274–275.

71. Ortiz, K. Phytoremediation of soils contaminated with Mn and Cu from «Ocimum basilicum» / K. Ortiz // Revista Latinoamericana de Ambiente y Ciencias. – 2018. – Vol. 9, No. 22. – P. 76–89.

72. Проценко, Е. П. Способность к фитоэкстракции цинка горчицей сарептской «Brassica juncea» (L.) при разных уровнях загрязнения черноземной и серой лесной почвы / Е. П. Проценко, Н. П. Неведров // Ученые записки. Электронный научный журнал Курского государственного университета. – 2013. – № 1 (25).

73. Семенютина, А. В. Принципы формирования и размещения культурценозов в санитарно-защитных зонах на техногенных землях / А. В. Семенютина, В. М. Кретинин, С. С. Таран // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса. – 2013. – № 2 (30).

74. Бактыбаева, З. Б. Оценка воздействия нефтеперерабатывающей и нефтехимической промышленности на эколого-гигиеническое состояние объектов окружающей среды и здоровье населения (обзор литературы) / З. Б. Бактыбаева, Р. А. Сулейманов, Т. К. Валеев, Н. Р. Рахматуллин // Медицина труда и экология человека. – 2018. – № 4 (16).

75. Харина, Г. В. Аккумуляция тяжелых металлов в почвах Свердловской области / Г. В. Харина, Л. В. Алешина // Известия Томского политехнического университета. – 2022. – № 2.

76. Chen, J. Copper induced oxidative stresses, antioxidant responses and phytoremediation potential of Moso bamboo (*Phyllostachys pubescens*) / J. Chen, M. Shafi, S. Li [et al.] // Scientific Reports. – 2015. – Vol. 5. – Article 13554.

77. Rene, E. Environmentally friendly (Bio)technologies for the removal of emerging organic and inorganic pollutants from water / E. Rene, L. Shu, V. Jegatheesan // Journal of Water Supply: Research and Technology-Aqua. – 2018. – Vol. 67. – DOI 10.2166/aqua.2018.000.

78. Сириева, Т. А. Роль минерального питания при гидропонном выращивании / Т. А. Сириева, Я. Н. Сириева // Новые импульсы развития: вопросы научных исследований. – 2020. – № 1-1.

79. Le, T. T. Effects of different nutrient solutions on growth and flower quality of gerbera (*Gerbera jamesoni*) grown in hydroponic close system / T. T. Le [et al.] // Hue University Journal of Science: Natural Science. – 2021. – Vol. 130, No. 1D. – P. 47–54.

80. Харитонов, А. Э. Разработка гидропонных растворов с применением микроэлементов в хелатирующей форме / А. Э. Харитонов, С. А. Мурадян, К. В. Пищаева // Арктика: актуальные проблемы и вызовы : сборник научных материалов Всероссийской конференции с международным участием (Архангельск, 13–17 ноября 2023 г.). – Архангельск: ООО «Типография № 2», 2023. – С. 938–942.

81. Харитонов, А. Э. Разработка гидропонных растворов с применением микроэлементов в хелатирующей форме / А. Э. Харитонов, К. В. Пищаева, С. А.

Мурадян // Сборник тезисов XXII научной школы молодых ученых ИБРАЭ РАН (Москва, 23–24 мая 2023 г.). – М.: ИБРАЭ РАН, 2023. – С. 73.

82. Харитонов, А. Э. Разработка гидропонных растворов с применением микроэлементов в хелатирующей форме / А. Э. Харитонов // XVII Нумановские чтения. Результаты инновационных исследований в области химических и технических наук в XXI веке. – Душанбе: Институт химии им. В. И. Никитина НАНТ, 2023. – Т. 1. – С. 5.

83. Харитонов, А. Э. Анализ производства и использования гидропонных растворов с применением микроэлементов в хелатирующей форме / А. Э. Харитонов, К. В. Пищяева // Образование и наука для устойчивого развития: XV Международная научно-практическая конференция: материалы. – М.: РХТУ им. Д. И. Менделеева, 2023. – С. 208–210.

84. Харитонов, А. Э. Разработка гидропонных растворов с применением микроэлементов в хелатирующей форме / А. Э. Харитонов, К. В. Пищяева, С. А. Мурадян // II Лавёровские чтения. Арктика: актуальные проблемы и вызовы: сборник научных материалов Всероссийской конференции с международным участием. – Архангельск: ООО «Типография № 2», 2023. – Т. 1. – С. 938–942.

85. Болотов, Н. А. Способ обеззараживания семян зерновых культур: пат. 2222133 Рос. Федерация / Н. А. Болотов, Е. Е. Кашкин; заявл. 10.05.2000; опубл. 27.01.2004 // Бюллетень изобретений и полезных моделей. – 2004. – № 3.

86. Харитонов, А. Э. Основы эколого-методической системы сохранения природных экосистем и защиты биотопов от разрушения и загрязнения вредными веществами / А. Э. Харитонов, А. С. Макарова // Технологии переработки отходов с получением новой продукции: материалы VI Всероссийской научно-практической конференции. – Киров: Радуга-ПРЕСС, 2024. – Т. 1. – С. 4.

87. Харитонов, А. Э. Методологический подход к определению фитотолерантности к токсическому воздействию поллютантов с использованием гидропоники / А. Э. Харитонов, А. С. Макарова // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. – 2026. – Т. 1, № 1. – С. 5. – DOI 10.37882/2223-2966.2026.01.35.

88. Davenport, H. A. Histological and histochemical technics / H. A. Davenport. – Philadelphia: W. B. Saunders, 1961. – 401 p.

89. Низамутдинова, Н. Р. Определение селена, мышьяка и сурьмы в образцах растительного происхождения методом ААС-ЭТА / Н. Р. Низамутдинова, В. И. Сафарова, Р. М. Хатмуллина [и др.] // Башкирский химический журнал. – 2019. – № 1.

90. Кузнецов, М. Н. Содержание подвижных форм тяжёлых металлов в почве садовых агроценозов юга Нечерноземья / М. Н. Кузнецов, Е. В. Леоничева, Т. А. Роева [и др.] // Современное садоводство. – 2012. – № 1 (4).

91. Губко, Е. В. Определение ртути в пищевых продуктах на анализаторе РА-915+ с использованием приставки пиро-915+ / Е. В. Губко, Е. П. Капуста // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2012. – № 3-4.
92. Базака, Л. Н. Статистическая обработка данных в среде пакетов Statistica, EViews и MS Excel: методические указания / Л. Н. Базака, А. И. Разинков. – Пинск: ПолесГУ, 2015. – 138 с.
93. Fulekar, M. H. Bioinformatics: applications in life and environmental sciences / M. H. Fulekar (ed.). – Berlin: Springer, 2009. – 110 p. – ISBN 1-4020-8879-5.
94. Айвазян, С. А. Прикладная статистика. Основы эконометрики: учебник для вузов / С. А. Айвазян, В. С. Мхитарян. – 2-е изд., испр. – М.: ЮНИТИ, 1998. – 1022 с.
95. Харитонов, А. Э. Методика использования гидропоники для просчета влияния антропогенных и абиотических факторов технологических процессов, продуктов нефтегазовой отрасли на растения в лабораторных условиях / А. Э. Харитонов, А. С. Макарова // Образование и наука для устойчивого развития : XVI Международная научно-практическая конференция, посвящённая 300-летию Российской академии наук. – М. : РХТУ им. Д. И. Менделеева, 2024. – Т. 1. – С. 178–181.
96. Березин, И. И. Формула для построения кривой «Доза эффект» / И. И. Березин, В. В. Сучков // Известия Самарского научного центра РАН. – 2014. – № 5-5.
97. Карпова, А. Ю. Сорбционная способность дерново-подзолистой почвы по отношению к ионам никеля / А. Ю. Карпова, М. А. Шумилова // Химическая физика и мезоскопия. – 2019. – № 2.
98. Петухов, А. С. Ответная антиоксидантная реакция травянистых растений различных видов на загрязнение среды тяжелыми металлами / А. С. Петухов, Т. А. Кремлева, Г. А. Петухова // Вестник Нижневартковского государственного университета. – 2024. – № 2.
99. Андреева, И. В. Сравнительная характеристика растений – гипераккумуляторов по накоплению никеля для целей фиторемедиации / И. В. Андреева // Агрохимический вестник. – 2013. – № 6.
100. Kamal, M. A. Effect of different levels of EDTA on phytoextraction of heavy metal and growth of «Brassica juncea» L. / M. A. Kamal, K. Perveen, F. Khan [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2023. – Vol. 14. – Article 1228117. – DOI 10.3389/fmicb.2023.1228117.
101. Автухович, И. Е. Повышение фитоэкстракции почвенного кадмия посредством применения ЭДТА / И. Е. Автухович // Вестник МГУЛ – Лесной вестник. – 2003. – № 3.
102. Титов, А. Ф. Физиолого-биохимические и молекулярно-генетические механизмы устойчивости растений семейства «Роасеае» к тяжелым металлам / А. Ф. Титов. – Санкт-Петербург, 2016.

103. Дедюхина, Э. Г. Биодegradация ЭДТА / Э. Г. Дедюхина, Т. И. Чистякова, И. К. Минкевич // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии. – 2007. – Т. 3, № 2. – С. 40–49.
104. Автухович, И. Е. Влияние ЭДТА на поведение металлов в субстрате и их накопление растениями / И. Е. Автухович, Д. А. Постников // Агрохимический вестник. – 2014. – № 1.
105. Бухаров, А. Ф. Использование температурного коэффициента при изучении прорастания семян / А. Ф. Бухаров, Д. Н. Балеев, А. Р. Бухарова // Пермский аграрный вестник. – 2016. – № 2 (14). – С. 10–16.
106. Reeves, R. A global database for plants that hyperaccumulate metal and metalloid trace elements / R. Reeves, A. Baker, T. Jaffré [et al.] // New Phytologist. – 2017. – Vol. 218. – DOI 10.1111/nph.14907.
107. Famulari, S. A user-friendly phytoremediation database: creating the searchable database, the users, and the broader implications / S. Famulari, K. Witz // International Journal of Phytoremediation. – 2015. – Vol. 17, No. 8. – P. 737–744. – DOI 10.1080/15226514.2014.987367.
108. Ильин, В. Б. Тяжёлые металлы в системе почва – растение / В. Б. Ильин; отв. ред. И. Л. Клевенская; АН СССР, Сиб. отд-ние, Ин-т почвоведения и агрохимии. – Новосибирск: Наука, 1991. – 148 с. – ISBN 5-02-029422-5.
109. Green, C. Phytoremediation field studies database for chlorinated solvents, pesticides, explosives, and metals / C. Green, A. Hoffnagle. – Washington, DC: US Environmental Protection Agency, 2004. – 168 p.
110. Макаренко, С. И. Техничко-экономический анализ целесообразности внедрения новых технологических решений / С. И. Макаренко // Системы управления, связи и безопасности. – 2016. – № 1. – С. 278–287.
111. Экономическая эффективность технических решений: учебное пособие / под общ. ред. проф. И. В. Ершовой. – Екатеринбург: Издательство Уральского университета, 2016.
112. Услуги по демеркуризации и утилизации ртутьсодержащих отходов / ООО «Ртутная безопасность». – URL: <https://rtut-arb.ru/about/price> (дата обращения: 13.05.2026).
113. Кузнецова О. В. Актуальность использования жидкостной хромато-масс-спектрометрии в экспертных подразделениях: автореф. диплом. работы / О. В. Кузнецова; Сарат. нац. исслед. гос. ун-т им. Н. Г. Чернышевского. – Саратов, 2025. – 15 с.
114. Zhang X, Zhong T, Liu L, Ouyang X. Impact of Soil Heavy Metal Pollution on Food Safety in China. PLoS One. 2015 Aug 7;10(8): e0135182. doi: 10.1371/journal.pone.0135182.
115. Герцен, М. М. Сорбционная способность органоглин на основе бентонита и ПАВ разных типов по отношению к тяжелым металлам: автореф. дис. канд. хим. наук: 1.5.15 / М. М. Герцен; Рос. ун-т дружбы народов. – [Б. м.], 2025.

ПРИЛОЖЕНИЯ

ПРИЛОЖЕНИЕ №1 – «СВИДЕТЕЛЬСТВО О ГОСУДАРСТВЕННОЙ
РЕГИСТРАЦИИ ПРОГРАММЫ ДЛЯ ЭВМ № 2026615895»

«PhytoRemediator» – программный комплекс для автоматизации подбора видов-фиторе медиантов (Swift/SwiftUI, iOS, архитектура MVVM).

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО
о государственной регистрации программы для ЭВМ
№ 2026615895

PhytoRemediator

Правообладатель: *Харитонов Александр Эдуардович (RU)*

Автор(ы): *Харитонов Александр Эдуардович (RU)*

Заявка № **2026614865**
Дата поступления **24 февраля 2026 г.**
Дата государственной регистрации
в Реестре программ для ЭВМ **03 марта 2026 г.**



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Документ подписан электронной подписью
Сертификат 00a570e4774d3d531b4b8818e75f29506
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 04.07.2025 по 28.11.2026

Ю.С. Зубов

ПРИЛОЖЕНИЕ №2 – «АКТ О ВНЕДРЕНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ»

«МОДУЛЬ» ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ КООПЕРАТИВ

Юридический адрес: 426068, Удмуртская Республика, город Ижевск, улица Автозаводская, дом 7, помещ. 108/109.
ИНН/КПП: 18000227236/180001001, ОГРН: 1241800016072.



«УТВЕРЖДАЮ»

Председатель ПК «Модуль»

А.П. Афанасьева

«12» ноября 2025 г.

АКТ

О внедрении результатов диссертационной работы ХАРИТОНОВА АЛЕКСАНДРА ЭДУАРДОВИЧА,

выполненной на тему:

**«Разработка методологического подхода для определения фитотолерантности к
токсическому воздействию поллютантов с использованием гидропоники, как
модельной среды»**

Настоящим актом подтверждается, что положения и результаты диссертационного исследования Харитонova Александра Эдуардовича внедрены в научную и проектную деятельность ПК «Модуль».

Деятельность ПК «Модуль», являющегося современной и динамично развивающейся компанией, сконцентрирована на комплексном обслуживании помещений и озеленении территорий промышленных и некоммерческих объектов, что способствует устойчивому развитию региона.

Исследование, проведенное аспирантом РХТУ им. Д.И. Менделеева, было представлено на совете руководителей организации, результаты которого были признаны практически значимыми для определения приоритетных направлений развития научных исследований.

Предложенная методология позволила ускорить срок проведения исследования по изучению устойчивости растений к стресс-факторам. Применение гидропоники значительно сократило временные затраты на проведение исследования, при этом сохранив точность полученных данных на оптимальном уровне. В связи с этим, данная методология была включена в перечень используемых научных подходов для исследования свойств растений, применимых при озеленении прилегающих территорий предприятий.

По результатам рассмотрения материалов на предмет их использования, комиссией устанавливается дата фактического внедрения: «11» сентября 2025 года.
Номер внутреннего приказа: 162 СТ от 11.09.2025 г.

Председатель ПК

Афанасьева А.П.

Члены комиссии:

Миненко А.А.

Коробова М.Г.

Кучма С.А.

ПРИЛОЖЕНИЕ №3
МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ
по внедрению результатов диссертационной работы «Разработка методологического подхода для определения фитотолерантности к токсическому воздействию поллютантов с использованием гидропоники как модельной среды» для планирования биологического этапа рекультивации загрязнённых территорий и организации биоиндикационного мониторинга

Специальность 1.5.15. Экология (технические науки)

Сведения об авторе:	Харитонов Александр Эдуардович, ассистент кафедры ЮНЕСКО «Зелёная химия для устойчивого развития» ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева»
Научный руководитель:	Макарова Анна Сергеевна, доктор технических наук, профессор кафедры ЮНЕСКО «Зелёная химия для устойчивого развития»
Целевая аудитория:	организации, осуществляющие биологический этап рекультивации нарушенных земель и биоиндикационный мониторинг загрязнённых территорий; научные сотрудники, специалисты-экологи, проектные организации, аспиранты и студенты старших курсов профильных направлений

Аннотация

Настоящие методологические рекомендации содержат пошаговое описание стандартизированной процедуры гидропонного эксперимента по определению предела фитотолерантности ($LimP_H$ и $LimP_S$) растений к тяжёлым металлам (ТМ) (Cd, Ni, Zn) и органическим загрязнителям (высокомолекулярные углеводороды, анионные ПАВ), а также инструкцию по применению программного комплекса «*PhytoRemediator*» для автоматизированного подбора растений в целях планирования биологического этапа рекультивации загрязнённых территорий и организации биоиндикационного мониторинга.

Ожидаемый результат применения рекомендаций: организация, осуществляющая биологический этап рекультивации или биоиндикационный мониторинг, получает воспроизводимые количественные показатели фитотолерантности ($LimP_H$, $LimP_S$, КБА, КТ, коэффициент « k ») для исследуемых видов растений применительно к конкретным типам загрязнения, а также практический навык работы с программным комплексом «*PhytoRemediator*» для автоматизированного подбора видов под условия конкретного объекта.

Введение

Почвы промышленных регионов Российской Федерации испытывают интенсивную техногенную нагрузку от деятельности горнодобывающих и нефтегазовых предприятий. По данным государственного экологического мониторинга Минприроды РФ (2023 г.), зафиксированы систематические превышения предельно допустимых концентраций (ПДК) ТМ в почвах Норильского, Челябинского, Свердловского, Иркутского и Липецкого промышленных кластеров в 30 и более раз. Для нефтегазодобывающих регионов приоритетными поллютантами являются высокомолекулярные углеводороды и анионные ПАВ.

Действующая нормативная база в области рекультивации нарушенных земель предусматривает обязательный биологический этап восстановления территорий, ключевым условием которого является научно обоснованный подбор видов растений с учётом типа и уровня загрязнения, типа почвы и природно-климатического региона.

Традиционные методы оценки фитотолерантности основаны на длительных полевых наблюдениях и характеризуются высоким разбросом данных вследствие неконтролируемых факторов почвенной среды (сорбционная ёмкость, кислотность, содержание органического вещества). Применение гидропоники позволяет устранить эти ограничения: коэффициент вариации результатов снижается до 10–15%, а продолжительность эксперимента – до 14–38 суток.

Цель рекомендаций – предоставить организациям, осуществляющим биологический этап рекультивации нарушенных земель и биоиндикационный мониторинг, стандартизированную и официально обоснованную процедуру гидропонного эксперимента для получения количественных показателей фитотолерантности растений к поллютантам, а также инструкцию по применению этих данных в программном комплексе «*PhytoRemediator*» для оперативного подбора видов растений под условия конкретного объекта.

1. Общие положения и область применения

Настоящие рекомендации описывают методологию оценки фитотолерантности высших растений к токсическому воздействию ТМ (Cd, Ni, Zn – приоритетные металлы для зон влияния горнодобывающих предприятий; при необходимости методология применима и к другим металлам, включая Pb и Hg), анионных ПАВ и высокомолекулярных углеводов в условиях гидропонной установки периодического затопления.

Методология применима для:

- определения предела фитотолерантности растений к техногенному воздействию поллютантов в лабораторных условиях ($LimP_H$);
- переноса лабораторных данных на почвенные условия через коэффициент пересчёта « k » с получением $LimP_S$;
- ранжирования видов растений по степени фитотолерантности с целью подбора видов для биологического этапа рекультивации нарушенных земель;
- установления видов-биоиндикаторов с известным порогом толерантности для организации мониторинга загрязнённых территорий;
- формирования базы данных показателей фитотолерантности для загрузки в программный комплекс «*PhytoRemediator*».

Организация, применяющая настоящие рекомендации, должна располагать лабораторной базой согласно разделу 2 либо привлекать аккредитованную лабораторию для проведения химического анализа образцов.

2. Материально-техническое обеспечение

Таблица 1 – Оборудование, необходимое для проведения эксперимента

№	Наименование	Назначение
1	Гидропонная установка периодического затопления (<i>объём резервуара не менее 20 л, таймер-контроллер циклов затопления</i>)	Культивирование тест-культур
2	рН-метр и кондуктометр (<i>погрешность не более $\pm 0,4$ ед.</i>)	Контроль параметров питательного раствора
3	Аналитические весы (точность 0,001 г), сушильный шкаф (105 °С)	Определение сырой и сухой биомассы
4	Атомно-абсорбционный спектрометр	Анализ тяжёлых металлов (Cd, Ni, Zn) в биомассе и субстрате
5	ИК-спектрофотометр и газовый хромато-масс-спектрометр	Анализ высокомолекулярных углеводов
6	Оборудование для MBAS-метода; фитолампы полного спектра	Анализ анионных ПАВ; освещение установки

Таблица 2 – Расходные материалы

№	Наименование	Назначение
1	Минераловатные маты или кубики; семена тест-культур	Субстрат и посадочный материал
2	Компоненты питательного раствора по утверждённому составу (патент РФ № RU2808836C1, микроэлементы в хелатной форме)	Питание растений
3	Соли тяжёлых металлов квалификации «ч.д.а.»: $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (при необходимости – $\text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2$)	Моделирование техногенного загрязнения
4	Высокомолекулярные углеводороды, анионные ПАВ (алкилбензолсульфонаты)	Моделирование органического загрязнения
5	Дистиллированная вода; 1%-й раствор KMnO_4	Приготовление растворов; обеззараживание семян

3. Пошаговая инструкция проведения эксперимента

Методология гидропонного эксперимента направлена на получение количественных значений пределов фитотолерантности к поллютантам и включает семь последовательных этапов.

Этап 1. Подготовка растительного материала

Используют семена тест-культур с всхожестью не менее 85%. Рекомендуются тест-культуры: кресс-салат (*лат. Lepidium sativum*), горчица сарептская (*лат. Brassica juncea*), мятлик луговой (*лат. Poa pratensis*), щавель обыкновенный (*лат. Rumex acetosa*), базилик (*лат. Ocimum basilicum*) и др.

Перед посевом семена обеззараживают в 1%-м растворе KMnO_4 в течение 20 минут, затем промывают дистиллированной водой не менее трёх раз. Семена раскладывают на влажные минераловатные маты или марлю в чашки Петри и помещают в тёмное место при температуре 20–22 °C на 48–72 часа до появления корешков длиной 3–5 мм. Проросшие семена высаживают в субстрат гидропонной установки из расчёта 10–20 семян на один контейнер.

Этап 2. Приготовление питательного раствора и настройка гидропоники

Применяют питательный раствор с микроэлементами в хелатной форме (*патент RU2808836C1*), обеспечивающий стабильность pH в диапазоне 6,5–8,0 на протяжении всего вегетационного цикла без выпадения осадка при введении солей тяжёлых металлов. Использование микроэлементов в хелатной форме исключает их конкурентное взаимодействие с вводимыми поллютантами и минимизирует фоновый шум в результатах.

Рабочий раствор готовят из концентрата до целевых значений электропроводности (ЕС) 1,8–2,2 мСм/см. Контроль pH проводят ежедневно; при отклонении на $\pm 0,2$ ед. проводят корректировку 0,1N раствором KOH или H_2SO_4 .

Перед введением поллютантов растения адаптируют в чистом питательном растворе в течение 5–7 суток.

Таблица 3 – Рабочие режимы гидропонной установки

Параметр	Значение
Цикл затопления	15 мин каждые 3 ч (только в световое время суток)
Температура раствора	20–22 °C
Освещённость	4000–6000 лк, фотопериод 16/8 ч
pH раствора	6,5–7,2 (ежедневная корректировка)
ЕС раствора	1,8–2,2 мСм/см
Обновление раствора	Каждые 48 ч (полная замена)

Этап 3. Формирование концентрационных рядов поллютантов

Поллютанты вносят в питательный раствор в виде водных растворов солей металлов или органических соединений на 7-е сутки после рассадки проростков. Каждый контейнер установки соответствует одному уровню концентрации поллютанта. Контейнер № 1 всегда является эталонным (без поллютантов). При изолированном тестировании нескольких ТМ каждый металл вносят в отдельный контейнер во избежание конкурентных взаимодействий катионов.

Концентрации поллютантов задаются в прямой размерности – «мг/л» для гидропонной среды и «мг/кг» для почвенной среды, без пересчёта в кратность ПДК. Отправной точкой для проектирования концентрационного ряда служат значения предельно допустимых и ориентировочно допустимых концентраций (ПДК/ОДК) ТМ в почве согласно СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания» (Таблица 4). Итоговый концентрационный ряд эксперимента строится в единицах массовой концентрации (мг/л, мг/кг) и не выражается через кратность ПДК ни на одном из этапов.

Таблица 4 – Значения ПДК/ОДК ТМ в почве согласно СанПиН 1.2.3685-21,

Металл	ПДК/ОДК, мг/кг почвы
Cd^{2+}	2,0 (ОДК)
Ni^{2+}	4,0
Zn^{2+}	23,0
Hg^{2+}	2,1

Рекомендуется двухэтапная схема формирования концентрационного ряда.

Этап 1 – Широкий скрининговый ряд. Формируют концентрационный ряд с широким шагом, охватывающий диапазон от заведомо безопасных до заведомо летальных концентраций (ориентировочно от значения ПДК/ОДК из таблицы 4 до концентраций, в 100–200 раз превышающих его, выраженных при этом в прямой размерности мг/л). Цель – локализовать зону диагностически значимого отклика, то есть приблизительный диапазон предела толерантности. Продолжительность этапа – 14–21 сутки.

Этап 2 – Точечный суженный ряд. На основе результатов широкого скрининга формируют суженный ряд с малым шагом в локализованном диапазоне (*пример шага – 20 мг/л между соседними уровнями для Cd^{2+}*). Цель – точечное определение $LimP_H$ с погрешностью не более $\pm 5\text{--}15\%$. Продолжительность этапа – 14–21 сутки.

Этап 4 – Измерение морфометрических параметров и химический анализ. Морфометрические измерения проводят каждые 3 суток на протяжении всего вегетационного периода. Фиксируют: высоту надземной части (мм); длину главного корня (мм); площадь листовой поверхности (при наличии планиметра); визуальные признаки стресса – хлороз, некроз, деформации листовых пластин, потерю тургора. Все измерения вносят в стандартизированный протокол наблюдений (форма приведена в таблице 5).

Таблица 5 – Форма протокола морфометрических наблюдений

Дата	Вид	Контейнер	Концентрация, мг/л (мг/кг)	Повтор	Высота надзем. части, мм	Длина корня, мм	Визуальные признаки стресса
...	...	...	...	...	...	...	...

По окончании эксперимента растения извлекают из субстрата, корневую систему тщательно отмывают дистиллированной водой и разделяют на надземную и корневую части. Определяют сырую биомассу каждой части (взвешивание непосредственно после разделения) и сухую биомассу (*после высушивания при 60 °C до постоянной массы*).

Высушенные и измельчённые образцы подвергают химическому анализу дифференцированно по классам поллютантов (таблица 6). Одновременно проводят химический анализ питательного раствора и субстрата для определения концентрации поллютантов в среде на момент завершения эксперимента.

Таблица 6 – Методы химического анализа загрязнителей в биомассе

Загрязнитель	Метод анализа
ТМ (Cd, Ni, Zn и др.)	ААС после кислотного разложения
Высокомолекулярные углеводороды	ИК-спектрофотометрия и газовая хромато-масс-спектрометрия
Анионные ПАВ	МВАС-метод (метиленовый синий)

Этап 5 – Расчёт предела фитотолерантности ($LimP_H$) и коэффициента пересчёта « k ». Для каждого концентрационного варианта поллютанта по результатам морфометрических измерений рассчитывают эффект (ингибирование роста, %) относительно контроля по формуле:

$$\text{Эффект}(\%) = \frac{\text{эталон}-\text{опыт}}{\text{эталон}} * 100\% \quad (1).$$

Для каждого вида растения строят кривую «концентрация–эффект» (рисунок 1). Аппроксимацией S-образной зависимости уравнением Хилла определяют концентрацию, при которой эффект достигает 50%. Данное значение принимают за предел фитотолерантности в гидропонной среде ($LimP_H$, мг/л).

Уравнение Хилла:

$$E = \frac{E_{max} \cdot A^n}{EC_{50}^n + A^n} \quad (2),$$

где E – эффект (ингибирование роста, %); E_{max} – максимальный эффект (100%); A – концентрация поллютанта (мг/л); $LimP_H$ – концентрация 50%-го эффекта (мг/л); n – коэффициент Хилла (крутизна кривой).

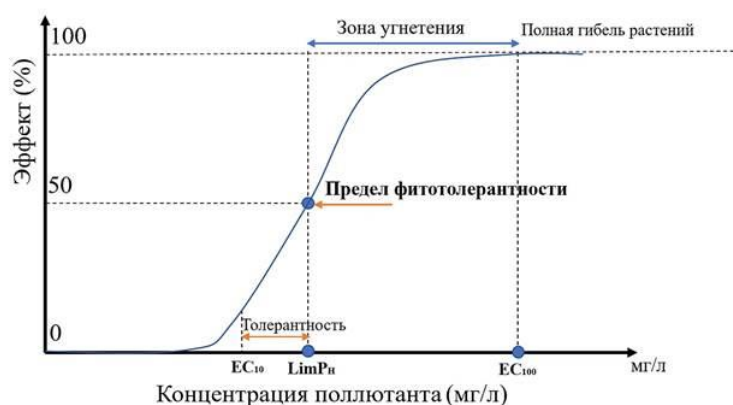


Рисунок 1 – Универсальная S-образная кривая «концентрация–эффект»

В дополнение к универсальной S-образной кривой «концентрация–эффект» используются два частных случая дозозависимого отклика, представленных в координатах «интенсивность жизнедеятельности – концентрация» (рисунки 2 и 3).

Рисунок 2 иллюстрирует зависимость для биогенных элементов и органических загрязнителей, проявляющих горметический эффект (Zn^{2+} , ПАВ,

высокомолекулярные углеводороды). По оси X – концентрация поллютанта (мг/л), по оси Y – интенсивность жизнедеятельности (*показатель, отражающий активность роста и функционирования растения*). Кривая имеет колоколообразную форму: при малых концентрациях наблюдается стимуляция роста (горметизис), затем достигается пик, после которого начинается угнетение. Точка $LimP_H$ соответствует 50%-му снижению интенсивности жизнедеятельности относительно пикового уровня.

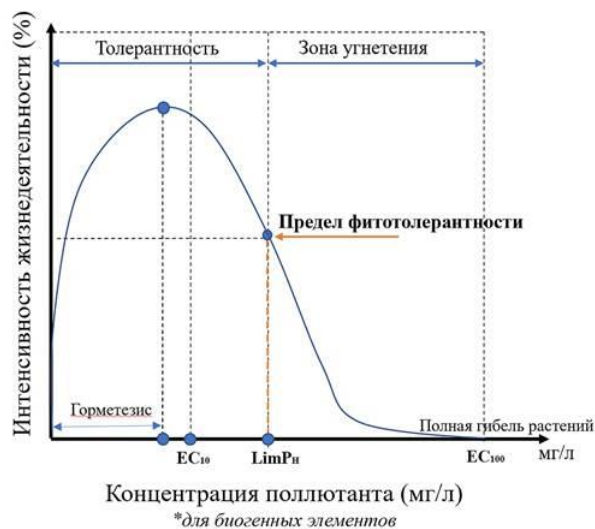


Рисунок 2 – Кривая «интенсивность жизнедеятельности – концентрация» для биогенных элементов

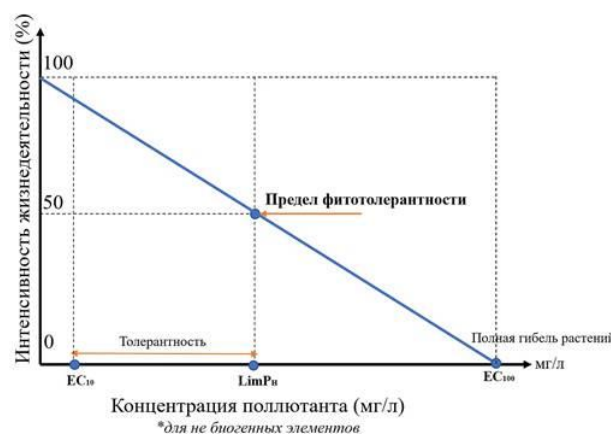


Рисунок 3 – Кривая «интенсивность жизнедеятельности – концентрация» для небиогенных элементов

Рисунок 3 отражает зависимость для небиогенных ТМ (Hg^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+}), не выполняющих физиологических функций в растении. Здесь отсутствует стимуляция – кривая монотонно убывает от 100% (контроль) до 0% (полная гибель) с увеличением концентрации. $LimP_H$ соответствует 50%-му снижению интенсивности жизнедеятельности относительно исходного уровня.

Зона толерантности лежит между началом токсического эффекта (EC_{10}) и $LimP_H$, зона угнетения – между $LimP_H$ и полной гибелью (EC_{100}). Оба графика (рисунки 2 и 3) являются производными базовой S-образной кривой (рисунок 1) и служат для визуализации и интерпретации экспериментальных данных в зависимости от природы поллютанта, при этом во всех случаях $LimP_H$ остаётся единым количественным критерием фитотолерантности.

Для переноса гидропонных данных в почвенные условия вводят коэффициент пересчёта «k» (л/кг):

$$k = \frac{LimP_s}{LimP_H} \quad (3),$$

где $LimP_H$ (мг/л) – предел фитотолерантности в гидропонной среде; $LimP_s$ (мг/кг) – предел фитотолерантности в почвенной среде. Коэффициент «k» варьирует от 0,66 до 4 в зависимости от вида растения, поллютанта и типа почвы. Значение «k» определяют для каждой комбинации «вид × поллютант × тип почвы» на основе параллельного эксперимента в почвенной среде. При $k \approx 1$ гидропоника точно воспроизводит полевые условия.

Другие измеряемые параметры (КБА, КТ, биомасса) не участвуют в расчёте $LimP_H$, но заносятся в базу данных программного комплекса «*PhytoRemediator*» для сортировки видов по совокупности критериев и выбора оптимальных растений-фиторемедиантов или биоиндикаторов для конкретных условий загрязнения.

Этап 6 – Статистическая обработка результатов. Каждый вариант эксперимента (вид × концентрация) проводят в трёхкратной биологической повторности ($n = 3$). Минимальное число растений в каждом повторе – 10 штук. Коэффициент вариации результатов не должен превышать 20%; при превышении этого порога серию повторяют.

Обработку данных выполняют методом дисперсионного анализа (ANOVA) с вычислением наименьшей существенной разницы для оценки достоверности различий между вариантами; методом регрессионного анализа для построения кривых «доза–отклик» и расчёта $LimP_H$; методом корреляционного анализа для оценки связи между гидропонными и почвенными значениями $LimP_H$ и $LimP_s$.

Этап 7 – Внесение данных в программный комплекс «*PhytoRemediator*». Полученные значения $LimP_H$, КБА, КТ и коэффициента «k» заносят в базу данных программного комплекса «*PhytoRemediator*» в формате CSV для последующего автоматизированного использования при подборе видов. Для каждого вида указывают: латинское и русское наименование, семейство; тип

фиторемедиационной стратегии; значения $LimP_H$ и $LimP_S$ для каждого загрязнителя; КБА и КТ; коэффициент « k » для каждого из 11 типов почв; предпочтительные регионы произрастания; урожайность биомассы и рекомендуемый способ утилизации.

4. Применение программного комплекса «*PhytoRemediator*»

4.1. Назначение и область применения

Программный комплекс «*PhytoRemediator*» (свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2026615895) предназначен для автоматизации научно обоснованного подбора видов растений для биологического этапа рекультивации загрязненных территорий и организации биоиндикационного мониторинга.

Комплекс содержит базу данных более 150 видов растений, охватывающую 11 природно-климатических регионов Российской Федерации, 11 типов почв и 10 классов загрязняющих веществ (Cd , Zn , Ni , Hg , As , Cr , высокомолекулярные углеводороды, анионные ПАВ и др.).

4.2. Алгоритм работы программного комплекса

Алгоритм работы программного комплекса состоит из шести последовательных шагов.

Шаг 1 – Ввод исходных параметров. Пользователь последовательно задаёт: тип среды (*почвенная или гидропонная*); географический регион из 11 природно-климатических зон РФ; тип почвы из 11 категорий; концентрации загрязняющих веществ (*до 10 типов одновременно*) в мг/кг с точностью до трех знаков после запятой; площадь участка (m^2) и глубину загрязнённого слоя (m).

Шаг 2 – Расчёт эффективного почвенного предела толерантности $LimP_S$. Для каждого вида растений из базы данных (более 150 видов) программа вычисляет пороговую концентрацию, скорректированную на почвенные условия:

$$LimP_S = LimP_H \times k \times k(pH) \quad (4),$$

где $LimP_H$ – базовый предел толерантности, определённый экспериментально в гидропонной среде (мг/л); k – коэффициент пересчёта для

данного типа почвы (значения варьируют от 0,66 до 4 л/кг в зависимости от вида, загрязнителя и типа почвы); $k(pH)$ – поправка на кислотность почвы, определённая экспериментально для диапазона pH 5,0–7,5.

Шаг 3 – Отбор видов по индексу применимости. Для каждого вида и каждого введённого загрязнителя ПО вычисляет индекс применимости (ИП):

$$ИП = \frac{LimPS}{C_{ФАКТ}} \quad (5).$$

Вид считается применимым при $ИП \geq 110\%$, что обеспечивает запас толерантности на случай пространственной вариабельности загрязнения в полевых условиях. Виды, не прошедшие отбор по любому из загрязнителей, исключаются из дальнейшего рассмотрения.

Шаг 4 – Ранжирование видов по интегральному потенциалу фитоэкстракции. Для видов, прошедших отбор, рассчитывается суммарный потенциал извлечения (P) за один цикл посадки (в расчёте на 1 га):

$$P = КБА \times КТ \times \text{Урожайность} \times C_{ФАКТ} \quad (6).$$

При смешанном загрязнении общий потенциал вида рассчитывается как сумма потенциалов по каждому загрязнителю. Ранжирование выполняется по убыванию суммарного потенциала P .

Шаг 5 – Расчёт параметров рекультивации. Для каждого вида (по умолчанию для пяти) программа рассчитывает: массу загрязняющего вещества в почве; извлекаемую массу за один цикл; необходимое количество циклов посадки; суммарную биомассу за все циклы; стоимость утилизации согласно удельной стоимости выбранного способа.

Шаг 6. Формирование и вывод рекомендаций. Программа выводит отсортированный список видов с указанием ИП, интегрального потенциала, необходимого числа циклов, суммарной биомассы, стоимости утилизации и рекомендуемого способа утилизации. Отчёт экспортируется в формате PDF для непосредственного включения в проектную документацию.

5. Интерпретация результатов и принятие решений

Для биологического этапа рекультивации. Виды с высоким $LimP$ (значительно превышающим уровень загрязнения участка), $КБА > 1$ и $КТ > 1$

рекомендуются как фитоэкстракторы. На основании данных о $LimP_H$ и $LimP_S$ подбирают виды, способные выживать и сохранять ростовой потенциал при конкретных концентрациях загрязнения, что служит научным основанием для разработки регламентов биологического этапа рекультивации.

Для биоиндикационного мониторинга. Виды с низким $LimP$ (сопоставимым с уровнем загрязнения участка) и $КТ < 1$ рекомендуются как биоиндикаторы. Высадка таких видов на территориях с предполагаемым загрязнением позволяет использовать их гибель или выраженное угнетение как диагностический признак превышения концентрации поллютанта выше биологического потенциала данного вида.

Практические рекомендации для организаций-исполнителей:

1. Для первичного скрининга видов применять гидропонный метод по разработанному протоколу. Срок скрининга – 14–38 суток, стоимость – 79–105 тыс. руб. на одну серию.

2. При загрязнении Cd, Ni и Zn в качестве приоритетного фитоэкстрактора рекомендовать горчицу сарептскую (*лат. Brassica juncea*): $LimP_H$ (Cd) = 60 мг/л, $LimP_H$ (Ni) = 40 мг/л, $LimP_H$ (Zn) = 690 мг/л, КБА(Cd) = 14,6–19,8, КТ = 2,8–3,4.

3. При экстраполяции гидропонных данных на полевые условия применять коэффициент « k », скорректированный по типу почвы, pH.

4. Для автоматизированного подбора видов использовать программный комплекс «*PhytoRemediator*», сокращающий время принятия решений в 3–5 раз.

Заключение

Настоящие методологические рекомендации описывают воспроизводимую и стандартизированную процедуру гидропонного эксперимента для получения количественных показателей фитотолерантности растений к тяжёлым металлам и органическим загрязнителям. Применение изложенной методологии позволяет в течение 14–38 суток получить достоверные значения $LimP_H$ и $LimP_S$, КБА, КТ и коэффициента пересчёта « k », которые могут быть непосредственно использованы организациями, осуществляющими биологический этап рекультивации нарушенных земель или

биоиндикационный мониторинг, при разработке программ экологического мониторинга и проектов рекультивации с учётом типа загрязнения, типа почвы и природно-климатического региона.

Программный комплекс «*PhytoRemediator*» обеспечивает автоматизацию подбора растений на основе полученных данных и позволяет специалисту-экологу в оперативном режиме получать научно обоснованные рекомендации, пригодные для включения в проектную документацию.

Список использованных нормативных документов

- СанПиН 1.2.3685-21 *«Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания»*
- ГОСТ Р 72033-2025 *«Охрана окружающей среды. Биологическое разнообразие. Реставрация лесной растительности на отвалах горных пород. Основные положения»*
- ГОСТ Р 72370-2026 *«Охрана окружающей среды. Рекультивация нарушенных земель при разработке угольных месторождений. Основные положения»*
- ГОСТ Р 72369-2026 *«Охрана окружающей среды. Общие требования к рекультивации земель, нарушенных при добыче угля в условиях степной зоны Сибири»*
- ГОСТ Р ИСО 22030-2009 *«Качество почвы. Биологические методы. Хроническая фитотоксичность в отношении высших растений»*
- Приказ Минприроды России от 10.04.2026 № 202 *«Об утверждении Порядка проведения мониторинга состояния и загрязнения окружающей среды на территориях объектов размещения отходов и в пределах их воздействия на окружающую среду»*
- Патент Российской Федерации № RU2808836C1 *«Способ получения концентрата питательного состава для гидропонных систем»*
- Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2026615895 *«PhytoRemediator»*.