

УДК: 631.427: 631.453

## **Изучение экотоксичности урбаноземов методами биотестирования**

Бардина Т. В., Чугунова М. В., Бардина В. И.

В течение четырех лет изучалась экотоксичность верхних слоев урбаноземов г. Санкт-Петербурга с помощью традиционных и новых методов биологической диагностики. В качестве тест-культур использовались гидробионты, высшие растения, микроорганизмы. Составлен ряд использованных тест-организмов по степени их чувствительности к антропогенному воздействию. Установлен сезонный характер динамики токсичности для большинства исследованных почв и выявлена значимость влияния на ее уровень природных процессов.

*Ключевые слова:* урбаноземы, экотоксичность почв, тест-организм, методы биотестирования.

## **Study of the urban soils' ecotoxicity using biotesting methods**

Bardina T. V., Chugunova M. V., Bardina V. I.

The toxicity of urban soils' upper horizons in St. Petersburg using traditional and new methods of biological diagnostics has been studied for 4 years. Hydrobionts, higher plants and microorganisms were used as testing cultures. Sensitivity range of tested organisms towards anthropogenic impact was composed. The seasonal character of ecotoxicity dynamics for the most kinds of soils was determined. It was also detected that natural processes effect urban soils' toxicity.

*The key words:* urban soils, soil ecotoxicity, testing culture, biotesting methods

## **Введение**

Количество городов и их площади во всем мире постоянно увеличиваются. Поэтому изучение такого важного элемента урбоэкосистем, как почвенный покров, приобретает особую актуальность и значимость. Известно, что городские почвы формируются при наложении антропогенного воздействия на природные

процессы почвообразования. В результате образуются почвы-урбаноземы, по биологическим и физико-химическим показателям значительно отличающиеся от своих природных аналогов. По сравнению с зональными они характеризуются нарушенным профилем, сильным уплотнением, щелочной реакцией среды, загрязнением широким спектром различных токсичных веществ, а также строительным и бытовым мусором. В связи с этим поиск информативных показателей экологического состояния городских почв и надежных методов их определения в настоящее время является одним из главных направлений природоохранных исследований.

Аналитический контроль уровня загрязнения почв, в том числе городских, традиционно осуществляется с использованием физико-химических и химических методов, которые считаются наиболее точными. Однако с помощью этих методов невозможно обнаружить все загрязняющие почву вещества, из-за разнообразия последних, а также из-за сложных химических взаимодействий между поллютантами и природными соединениями. Кроме того, в почве могут находиться и неизвестные опасные вещества. В связи с этим, химические методы часто не могут установить реальную токсичность загрязненных почв. Единственным способом, позволяющим оценить интегральную токсичность почв, является биотестирование, в основе которого лежит определение реакции живых организмов на уровень техногенного воздействия и содержание загрязняющих веществ в субстрате. Кроме того, биотестирование дает возможность получать объективную информацию о состоянии почвы при минимальных материальных и физических затратах, без использования сложных и дорогостоящих аналитических методов.

В настоящее время методы биотестирования широко используются в международной практике контроля за качеством почв и даже являются обязательными в природоохранной практике таких развитых стран, как США, Франция, Германия, Швеция, Япония [8, 10]. В нашей стране исследователями также предлагается в систему экологического мониторинга почв ввести стандартизированные методы биотестирования [3, 6, 7, 9].

Установление реальной токсичности почвы прежде всего зависит от правильного подбора тест-организмов. Для повышения точности токсикометрического определения рекомендуется использовать два или более тест-организмов из разных систематических групп. Для экспрессных анализов целесообразно использовать представителей трех основных звеньев трофической цепи: продуцентов, консументов, редуцентов [7].

При оценке токсичности почв биологическими методами обычно тестируют водную вытяжку и в качестве тест-организмов используют различные гидробионты: водоросли, ракообразные, хирономиды, моллюски и др. Однако, по нашему мнению, которое совпадает со взглядами других авторов, для адекватной оценки многокомпонентных плотных субстратов, и прежде всего почв, кроме элюатных методов необходимо использовать субстратное, или контактное, биотестирование, которое обеспечивает непосредственный контакт тест-организма с исследуемым образцом и таким образом позволяет установить уровень воздействия твердых загрязнителей [2, 3, 5, 7].

Городские почвы являются очень сложным объектом для биотестирования, в виду многообразия и большого количества находящихся в них загрязняющих веществ. Степень антропогенной нагрузки на почвенный покров в городе зависит от характера его использования (т.н. функциональные зоны). Наиболее сильное влияние поллютантов испытывают почвы автомагистралей, промышленных зон, внутриквартальных улиц, а наиболее низкие — почвы городских парков и рекреаций.

Целью данной работы являлось изучение экотоксичности верхних слоев урбаноземов г. Санкт-Петербург, расположенных в разных функциональных зонах, с применением традиционных и новых методов биотестирования, в которых задействованы в качестве тест-организмов представители трех трофических уровней.

### **Объекты и методы исследования**

В качестве объектов исследования были выбраны урбаноземы 6-ти мониторинговых площадок, расположенных в разных функциональных зонах Санкт-Петербурга:

- промышленная зона, площадка № 1 — пустырь у ТЭЦ,
- газоны вдоль оживленных транспортных магистралей: площадка № 2 — Пулковское шоссе, пл. № 5 — площадь Стачек, площадка № 6 — проспект Чернышевского, пл. № 7 — Комсомольская площадь;
- газон в городском саду — площадка № 8.

Площадь опытных площадок составляла 20 м<sup>2</sup>. Наблюдения проводились в течение 2008—2010 гг. Отбор образцов из слоев 0—5 см и 5—20 см осуществлялся трижды за вегетационный период (весной, летом и осенью) согласно ГОСТу 17.4.3.01-83 и ГОСТу Р 53123-2008 почвенным титановым

буром. Из 20-ти индивидуальных проб почв, готовился смешанный образец для биологических анализов.

Острая токсичность почвы устанавливалась элюатными и субстратными методами биотестирования с использованием набора тест-организмов, являющихся представителями продуцентов, консументов и редуцентов: высшие растения, гидробионты разной таксономической принадлежности, почвенные микроорганизмы. Контролем служили природные аналоги исследованных почв, удаленные от источников техногенного загрязнения на 50—100 км.

Острая токсичность загрязненных почв определялась путем биотестирования водных вытяжек с использованием двух тест-организмов:

1. ракообразных — *Daphnia magna Straus* (Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. ФР.1.39.2001);
2. простейших — инфузорий *Paramecium caudatum* (Методика определения токсичности проб вод (природных, зозяйственно-питьевых, промышленных сточных) экспресс-методом с применением прибора «Биотестер». ФР.1.31.2005.01881).

Повторность опытов — трехкратная. Критерием острой токсичности на дафниях являлась гибель более 50 % животных в тестируемых пробах за 96 часов по сравнению с контролем (А, %). Критерием токсичности на инфузориях служила безразмерная величина индекс токсичности Т (от 0 до 1), по величине которого определяется степень токсичности пробы.

Для установления степени токсичности загрязненных почв с помощью продуцентов использовали новый субстратный метод фитотестирования, разработанный в Санкт-Петербургском научно-исследовательском центре экологической безопасности РАН, где в качестве тест-культуры применяется пшеница мягкая — *Triticum vulgare L.* (Методика выполнения измерений всхожести семян и длины корней проростков высших растений для определения токсичности техногенно загрязненных почв. ФР.1.39.2006.02264). Данная методика позволяет диагностировать уровень токсичности загрязненных почв по снижению всхожести семян ( $N_1$ , %) и угнетению корней ( $N_2$ , %) в сравнении с контрольной пробой: V — практически не токсичные; IV — малотоксичные; III — умеренно токсичные; II — опасно токсичные; I — высоко опасно токсичные.

Интегральным и наиболее важным показателем качества почв служит состояние и биомасса произрастающих на них растений. Однако не менее

значимым индикатором при биомониторинге почв является микрофлора. Это обусловлено тем, что именно микроорганизмы, осуществляя минерализацию органического вещества, являются основным звеном в круговороте биогенных элементов в биосфере. Кроме того, микроорганизмы являются чувствительными индикаторами биологического состояния различных твердых сред и являются оптимальными тест-культурами для субстратного биотестирования [7]. Поэтому в качестве представителей редуцентов нами были использованы почвенные микроорганизмы, а точнее их ненарушенный естественный комплекс, содержащийся непосредственно в исследованной почве.

Показателем состояния микрофлоры исследованных почв служила ее средорегулирующая активность, роль которой заключается в ограничении диапазона колебаний химических свойств почвы [1]. Для ее количественной оценки использовалась интенсивность ответной реакции микрофлоры на внесение энергетического субстрата. В данном случае ответная реакция рассматривается как особый биологический механизм, обеспечивающий удаление возникающего в силу различных причин избытка соединений, нарушающих химическое равновесие почвы.

В качестве стимулятора ответной биологической реакции исследованных почв использовали глюкозу, которую вносили в количестве 1 % от веса сухого образца. Скорость и интенсивность ответной реакции устанавливали по количеству выделившейся углекислоты ежедневно адсорбционным методом [4]. Показателем характера ответной биологической реакции почв на внесение глюкозы служил уровень максимальной энергии процесса выделения  $\text{CO}_2$ . Критерием оценки токсичности служили статистически значимые различия между максимальным суточным уровнем дыхания микрофлоры исследованной почвы и контрольного образца после добавления в них глюкозы.

Статистическая обработка полученных результатов была проведена согласно указанным методикам.

## Результаты исследования

Результаты определения степени токсичности городских почв в период наблюдения с помощью фитотестирования представлены в сводной таблице №1.

*Таблица 1 — Результаты фитотестирования городских почв по годам наблюдения*

№ площ	Глубина, см	Степень токсичности почвы		
		2008 год, месяц	2009 год, месяц	2010 год, месяц

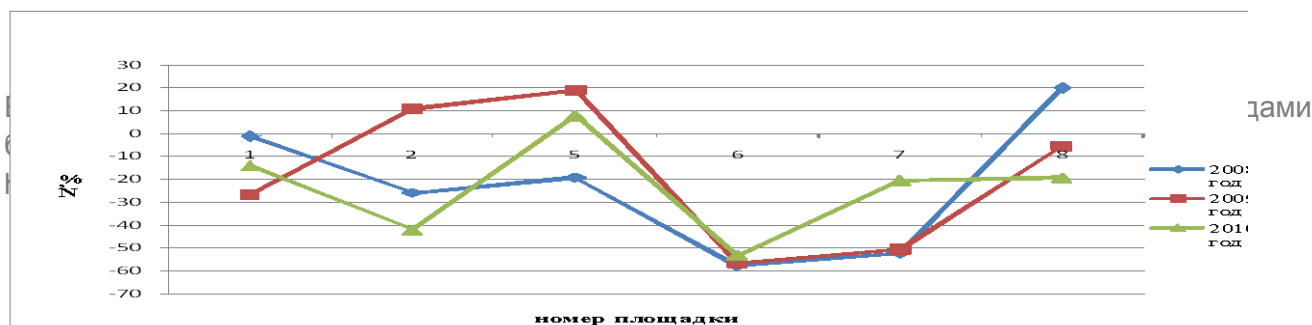
адки		05	07	10	05	07	10	05	07	10
1	0—5	III	IV	III	III	IV	V	V	IV	III
	5—20	IV	V	IV	V	V	IV	III	III	III
2	0—5	III	V	IV	IV	V	IV	V	V	III
	5—20	IV	V	V	IV	V	V	V	V	V
5	0—5	IV	V	V	IV	V	IV	III	V	IV
	5—20	V	V	V	V	IV	IV	V	V	V
6	0—5	V	IV	IV	IV	V	IV	IV	V	III
	5—20	V	V	V	V	IV	IV	V	V	III
7	0—5	V	V	V	IV	V	V	V	V	V
	5—20	V	V	V	IV	V	IV	V	V	IV
8	0—5	IV	IV	V	III	V	IV	V	V	V
	5—20	IV	V	IV	IV	IV	IV	IV	V	IV

Полученные данные, свидетельствуют, что весной верхние горизонты большинства исследованных почв (0—5 см), расположенных вдоль транспортных магистралей и в промзоне, характеризовались умеренной степенью токсичности. Так, в течение всего периода наблюдений весной почва на площадке № 5 характеризовалась IV и III степенями токсичности. Нижележащие горизонты (5—20 см) были практически не токсичным или в них наблюдалась малая степень токсичности. Весенняя фитотоксичность городских почв, по всей видимости, была обусловлена их загрязнением в результате снеготаяния. Известно, что снег обладает сильными сорбционными свойствами и за зимний период в нем накапливается большое количество веществ-загрязнителей окружающей среды: нефтепродуктов, тяжелых металлов, а также хлоридов натрия и калия, входящих в состав противогололедных реагентов.

Летом на большинстве площадок наблюдалось снижение степени фитотоксичности или она совсем не фиксировалась. Это может быть связано с вымыванием загрязняющих веществ в нижележащие слои и иногда с подсыпкой свежего грунта на газоны. За весь период наблюдений летом умеренная степень фитотоксичности почвы выявлялась на промплощадке № 1.

В осенний период фитотоксичность была зафиксирована в почвах, расположенных вдоль транспортных магистралей и на промплощадке, где антропогенное воздействие было наиболее сильным (выбросы ТЭЦ и автотранспорта, бытовой и строительный мусор, чрезмерное уплотнение). Особенно высокой фитотоксичность в этих почвах была осенью 2010 года, что возможно было обусловлено последствиями чрезвычайно жаркого и сухого лета.

В результате проведения субстратных микробных тестов было установлено, что биологическая активность большинства изученных городских почв



снижалась. Особенно сильно активность микрофлоры угнеталась весной в пробах почв, отобранных вблизи автомобильных магистралей (рис. 1).

*Рисунок 1 — Изменение средорегулирующей активности микрофлоры урбаноземов (слой 0—5 см) по сравнению с контролем, N %, сезон наблюдений — весна*

Так в урбаноземах площадок №№ 6, 7 она снизилась более чем на 50 % по сравнению с контрольной почвой, что свидетельствует о значительных нарушениях в функционировании почвенных микробоценозов.

Главной причиной неблагоприятного микробиологического состояния почв в весенний период, также как и в случае с высшими растениями, на наш взгляд, являлось химическое загрязнение почв, вызванное снеготаянием.

Летом и осенью биологическая активность городских почв была выше, чем весной. Однако, в почвах, расположенных вдоль магистралей с высокой автотранспортной нагрузкой (площадки №№ 6, 7), значительное снижение активности микрофлоры в отдельные годы сохранялось в течение всего вегетационного периода.

Итак, результаты наших исследований показали, что средорегулирующая активность микрофлоры, определяемая в контролируемых лабораторных условиях, является чувствительным показателем состояния антропогенно-загрязненных почв и может с успехом использоваться для целей мониторинга.

Результаты биотестирования водных вытяжек из городских почв на инфузориях приведены в таблице 2.

*Таблица 2 — Результаты биотестирования водной вытяжки на инфузориях (июль 2010 г.)*

№ площадки, глубина, см	Среднее значение индекса токсичности, T, у.е.	Погрешность при P=0,95	Группа токсичности*
1, 0—5	0,33	0,06	I
1, 5—20	0,49	0,06	II
2, 0—5	0,42	0,14	II
2, 5—20	0,23	0,09	I
5, 0—5	0,51	0,02	II
5, 5—20	0,09	0,05	I
6, 0—5	0,56	0,13	II
6, 5—20	0,49	0,08	II

7, 0—5	0,16	0,05	I
7, 5—20	0,08	0,06	I
8, 0—5	0,27	0,02	I
8, 5—20	0,22	0,05	I

Примечание: \* I — допустимая степень токсичности, II — умеренная степень токсичности

Тестирование с помощью инфузорий, проведенное в 2010 году, позволило выявить умеренную степень токсичности почв, расположенных вдоль автомагистралей. Так, на площадках №№ 2, 5, 6 индекс токсичности Т составлял 0,42—0,56, а на промплощадке № 1 индекс токсичности Т был равен 0,49.

Из опробованных тест-организмов дафнии оказались наименее чувствительными к уровню загрязнения городских почв.

По результатам биотестирования водных вытяжек на дафниях за весь период наблюдения острая токсичность была выявлена только однажды весной 2010 г. в верхнем слое почв (0—5 см), расположенных вдоль автомобильных и пешеходных дорог (площадки №№7,8), где в больших количествах применялись антигололедные средства в виду очень снежной зимы (рис. 2).

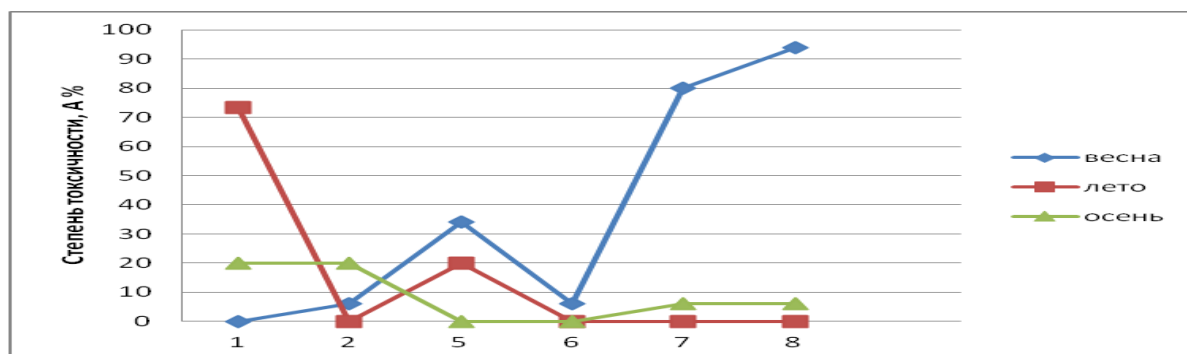


Рисунок 2 — Сезонное изменение степени токсичности почв в горизонте 0—5 см по результатам биотестирования на дафниях

Известно, что одной из главных причин неблагоприятного состояния городских почв является использование чрезмерных объемов противогололедных реагентов (хлориды натрия и кальция). По данным химического анализа содержание водорастворимого натрия в почвах этих придорожных площадок весной 2010 года составляло 98,8—186,2 мг/100г. По всей видимости, именно значительные концентрации электролитов, которые попадают в почву в результате таяния снега, обуславливают более высокую токсичность почв весной по сравнению с другими сезонами.



Кроме этого, в отдельные годы токсичность по результатам биотестирования на дафниях выявлялась весной и летом в почве промышленной зоны (площадка № 1) на глубине 5—20 см.

При несовпадении токсичности, определенной на разных тест-организмах, за конечный результат принималась более высокая степень токсичности.

## **Заключение**

В результате проведения многолетних наблюдений было установлено, что почвенная токсичность постоянно выявлялась на четырех из шести мониторинговых площадок. Полученные результаты свидетельствуют о неблагоприятном экологическом состоянии почвенного покрова Санкт-Петербурга.

Величина токсичности исследованных почв варьировала в зависимости от типа функциональной зоны и имела выраженную сезонную динамику.

Максимальная токсичность обнаруживалась весной на площадках, подверженных наиболее сильному антропогенному воздействию (почвы вдоль автотрасс с напряженным движением, около пешеходной дорожки в саду и почва промплощадки). Главной причиной неблагоприятного состояния почв в весенний период являлось химическое загрязнение почв, в частности электролитами, вызванное снеготаянием.

Летом на большинстве площадок наблюдалось снижение токсичности или токсичность совсем не фиксировалась, что могло быть связано с вымыванием поллютантов в нижележащие слои почвы или подсыпкой свежего грунта.

Токсичность почв возрастала осенью в связи с накоплением загрязняющих веществ. Особенно заметно это происходило в осенний период 2010 года после очень жаркого и сухого лета. Таким образом, на токсичность городских почв оказывало влияние не только степень антропогенной нагрузки, но и динамика природных процессов.

По степени чувствительности к антропогенному воздействию использованные тест-организмы образуют ряд: высшие растения > почвенные микроорганизмы > инфузории > дафнии.

Апробированный набор систем биотестирования, основанный на использовании тест-организмов разных трофических уровней и сочетающий

элюатные и субстратные методы исследования, позволяет получить надежную и достоверную информацию об экологическом состоянии антропогенно нарушенных городских почвах.

### Список литературы

1. Аристовская Т. В., Чугунова М. В., Зыкина Л. В. Скорость биологической реакции почвы на внесение органических веществ как показатель способности микрофлоры к регуляции условий почвенной среды / Т.В. Аристовская // Микробиология, 1988. Т. 57, вып. 5. – С. 860—867.
2. Бакина, Л. Г., Бардина Т. В., Маячкина Н. В. и др. К методике фитотестирования техногенно загрязненных почв и грунтов // Мат. межд. конф. «Экологические проблемы северных регионов и пути их решения» — Апатиты: Изд-во Кольского научного центра РАН, 2004, Ч.1. – С. 167—169.
3. Бардина Т. В., Чугунова М. В., Греков К. Б. Изучение влияния жидких экотоксикантов на токсичность почвы биологическими методами // Материалы конференции «Биосферные функции почвенного покрова». Пушино, 8—12 ноября 2010 г.» г. Пушино, 2010. – С. 33—35.
4. Головкин Э. А. О методах изучения биологической активности торфяных почв // Мат. научн. конф.: «Микробиологические и биохимические исследования почв» Киев, 28—31 окт. 1971 г. Киев, 1971. – С. 68—76.
5. Селивановская С. Ю., Галицкая П. Ю. Оценка токсичности почв с использованием контактного метода биотестирования // Токсикологический вестник, 2006, № 4. – С. 12—15.
6. Терехова В. А. Обзор о «весомости» биотических индексов в оценке экологического риска и нормировании // Экологическое нормирование, сертификация и паспортизация почв как научная основа рационального землепользования: Междунар. научно-практ. конф. 30 сентября—01 октября 2010 года. М.: МАКС Пресс, 2010. – С. 161—164.
7. Терехова В. А. Биотестирование почв: подходы и проблемы // Почвоведение, 2011, № 2. – С. 190—198.
8. Фомин Г. С., Фомин А. Г. Почва. Контроль качества и экологической безопасности по международным стандартам. М. 2001. — 304 с.
9. Шпис Т. Э., Ю. С. Ананьева. Биотестирование в системе агроэкологического мониторинга // Экологическое нормирование, сертификация и паспортизация почв как научная основа рационального землепользования. Материалы докладов междунар. н-практ. Конференции 30 августа—01 сентября 2010 г. М., 2010. – С. 177—180.
10. Maxam G., Rila J.-P. Dott W. and Eisentraeger A. Use bioassays for assessment of water-extractable ecotoxic potential of soil. Ecotoxicol. Environ. Saf. 2000. №45. – P. 240—246.