

УДК 631.95:615.9

ОЦЕНКА ФИТОТОКСИЧНОСТИ ПОЧВ РИСОВЫХ ПОЛЕЙ ВЬЕТНАМА

Людмила Петровна Воронина¹, Май Тху Лан², Елена Григорьевна Черемных³

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
факультет почвоведения, кафедра агрохимии и биохимии растений
119991, Российская Федерация, ГСП-1, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12*

¹ – вед. н. с., д. б. н.; e-mail: luydmila.voronina@gmail.com

*Московский государственный университет прикладной биотехнологии,
факультет пищевой биотехнологии, 109316, Москва, ул.Талалихина, д. 33*

² – аспирантка кафедры биоорганической химии; e-mail: maithulan@mail.ru

³ – н.с. кафедры биоорганической химии, к.б.н.; e-mail: elcher10@yandex.ru

В статье обсуждается наличие в почвенных образцах с рисовых полей Вьетнама остаточных количеств токсикантов или их метаболитов, которые определяются методами биотестирования. В фитотестах на семенах редиса и ячменя установлено (интегральная оценка по ряду показателей), что в серии испытуемых проб проявляется суммарная токсичность по биотесту.

Ключевые слова: суммарная токсичность, почва, метод биотеста, тест-растения.

Загрязнение и химическая деградация почв составляют одну из важнейших проблем сельского хозяйства во всем мире. Накопление токсических веществ в почве может происходить в результате технологических нарушений при использовании средств защиты растений, внесения сверхнормативных доз минеральных удобрений, использования осадков сточных вод, применения в качестве нетрадиционных удобрений отходов промышленного производства и пр.

Проблемы с загрязнением земель сельскохозяйственного назначения особенно остры во Вьетнаме. В Южном Вьетнаме они прежде всего связаны с масштабным загрязнением почв диоксидами. Основной причиной диоксинового загрязнения на данный период остается предпринятое армией США распыление содержавших диоксины дефолиантов во время войны 1961–1975 гг. Поражению подверглась территория около 1,6 млн. га в различных регионах юга Вьетнама [1, 2]. Большая часть дефолиантов (61,3 %) была представлена рецептурой «Оранжевый агент» (ОА). Из 55 тыс. т активных компонентов ОА 170 кг принято относить на долю наиболее токсичного из существующих ядов – 2,3,7,8 – тетрахлордibenзо-п-диоксина (ТХДД). Специфическим физико-химическим признаком диоксиноподобных соединений (ДПС) является их химическая инертность и высокая стабильность в окружающей среде [1]. Период полураспада ТХДД составляет 9–15 лет на поверхности и 25–100 лет в профиле почвы на большей ее глубине. Поэтому, с учетом незначительной вертикальной и горизонтальной миграции ДПС,

можно полагать, что их воздействие на территориях, подвергавшихся массовой обработке дефолиантами, сохраняется, и загрязненная диоксинами почва остается фактором риска для выживания нации.

Кроме того, диоксиновое загрязнение сельскохозяйственных земель обусловлено также последствием применения хлорсодержащих пестицидов в крестьянских хозяйствах при выращивании риса, особенно при нарушении принятых технологий [3, 4]. При этом могут накапливаться опасные уровни остаточных количеств пестицидов, а также образовываться токсичные метаболиты, продукты их утилизации и разложения. В результате несбалансированного использования в агропроизводстве современных средств защиты растений и иных химических препаратов, накопления в почве токсических веществ снижается урожайность сельскохозяйственных культур, изменяется химический состав и биологическая характеристика почвы, национального богатства и стратегического ресурса государств. Особенно актуальна задача сохранения плодородия почвы для стран Юго-Восточной Азии, имеющих высокую долю аграрного производства в экономике.

Климатические условия (повышенное количество атмосферных осадков во Вьетнаме, тайфуны, наводнения) являются природными факторами, повышающими риск процессов деградации почв и, как следствие, снижение урожайности и получения продукции, опасной для здоровья людей [2, 5].

Поэтому поиск способов диагностики безопасности и продуктивности сельскохозяйственных

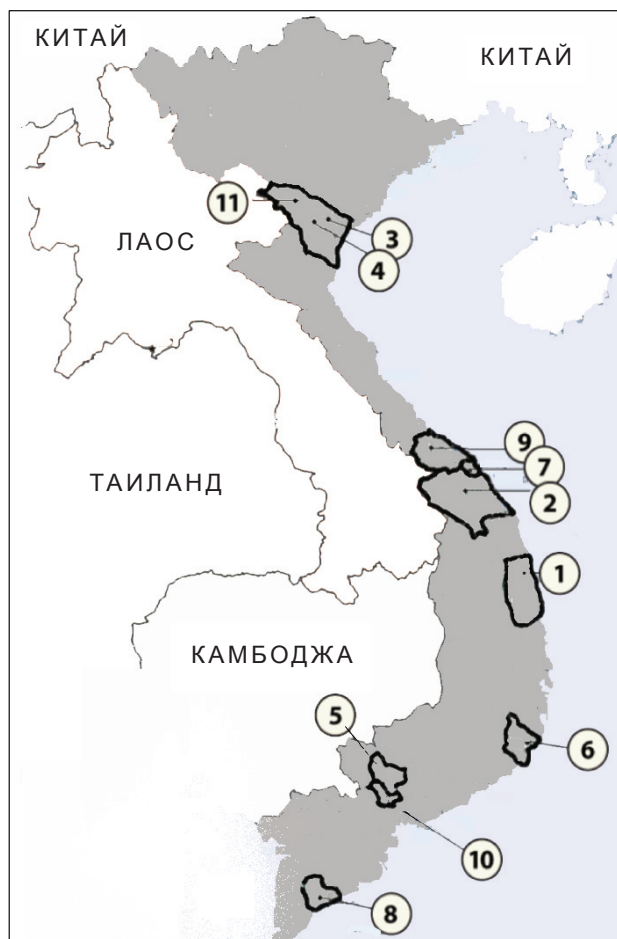


Рис. 1. Карта-схема расположения анализируемых почвенных проб на территории Вьетнама (названия районов см. табл. 1).

земель – задача актуальная и во Вьетнаме, и во всем мире. Такая диагностика возможна с помощью разнообразных методов биотестирования, одним из которых является фитобиотестирование (фитобиотест). В качестве тест-организмов в этом биотестировании* используют растения, обладающие высокой, часто избирательной чувствительностью к различным поллютантам. Эти тест-организмы легко культивировать, и их реакция сопоставима с реакцией других тест-объектов [6], например, инфузорий.

Экологический контроль совокупного действия органических загрязнений представляет собой сложную аналитическую задачу. В связи с этим целесообразность использования и развития методов фитотестирования для оценки суммарной

токсичности** в объектах окружающей среды вообще, и агроценоза в частности, возрастает [6–8]. Метод фитотестирования отвечает всем требованиям, предъявляемым к биотестам и наиболее перспективен для экологической оценки агроценоза. Это послужило основанием настоящего исследования по определению фитотоксичности почвенных образцов, отобранных на рисовых полях разных регионов Вьетнама.

Методика. Общая характеристика природных условий и почвенного покрова Вьетнама. S-образная территория Вьетнама находится на востоке полуострова Индокитай и имеет протяженность 1650 км с юга на север от 8°30' с.ш. до 23°22' с.ш. и на 600 км с запада на восток от 102°10' до 109°21' в.д. Общая площадь 329600 км². Климат Вьетнама влажный, тропический, муссонный. Суммарная годовая солнечная радиация 130 ккал/см². Средняя годовая температура всех не горных районов страны выше 20°C. Годовая сумма осадков в разных частях страны колеблется от 600 до 5000 мм. Перечисленные выше природные условия создают большие потенциальные возможности для дальнейшего повышения продуктивности сельского хозяйства и получения нескольких урожаев в год. Для выращивания риса в сельском хозяйстве Вьетнама наиболее широко используются измененные или деградированные культурой поливного риса ферраллитные почвы легкого гранулометрического состава на песчаниках и среднего и тяжелого гранулометрического состава на глинистых сланцах, а также деградированные древнеаллювиальные легкосуглинистые почвы [9].

Характеристика образцов. Образцы почвы были отобраны в 11 областях Вьетнама, специализирующихся на выращивании риса (рис. 1). Глубина отбора почвенных образцов 0–15 см. Информация по используемым препаратам (пестицидам) в соответствии с нумерацией почвенных образцов и регионов расположения полей приведена в табл. 1.

Определение суммарной токсичности почвы методом биотестирования. В почвенных образцах определяли суммарную токсичность методом фитотестирования. В основу определения были положены международные стандарты по контролю за качеством и экологической безопасностью

* Под биотестированием традиционно понимают приемы исследования, по которым судят о качестве среды, (факторах, действующих самостоятельно или в сочетании с другими), по выживаемости, состоянию и поведению специально помещенных в эту среду организмов – тест-объектов.

** Под суммарной токсичностью анализируемого образца понимают способность одного или смеси загрязняющих веществ, а также продуктов их метаболизма оказывать вредное влияние на тест-растение, вызывая признаки его повреждения.

1. Применение пестицидов согласно технологии выращивания риса

№ образца*	Район	Коммерческие названия	Активные вещества
1	Бинь Динь – Тий фыок – Винь Тхань	Karate 2,5 ec Sutin 5ec Validan 3dd	Acetaminprid 3% w/v Imidacloprid 2% w/v Validamycin A: 3%
2	Куанг Нам – Кье Шон – Кье Фу	Vitra Ko 40WG	Chlorantraniliprole 250г/л Thiamethoxam 200г/л
3	Тхань Хоа – Ха Чунг – Ха Лонг	Trione 750 WDG KAMSU Wavesuper 15SC Dantac 500SP	Tricyclazole: 750g/kg Kasugamycin 2% Indoxacarb Cartap
4	Тхань Хоа – Ха Чунг – Ха Занг	PREVATHON Annongaplau 100WP ABATIMEC 1.8 ec	Rynaxypyr Buprofezin Abamectin 1.8%
5	Бинь Зыонг – Тан Хйеп – Там Ной	Apphe 666EC	Alpha-cypermethrin 1.6% + Chlorpyrifos Ethyl 65 %
6	Нинь Тхуан – Нинь Шон – Лыонг Шон	Daphavil 50SC MOTOX 5 EC	Carbendazim Alpha Cypermethrin 5%
7	Да Нанг – Дай Лок – Дай Хынг – Чук Ха	Annong Manco 300SC Afumin 400WP VIBEN-C 50BTN	Mancozeb Iprobenfos 10g/kg + Isoprothiolane 390g/kg Clorpyrifos ethyl 530г/л, cypermethrin
8	Бак Лйеу – Фылк Лонг – Фонг Тхак – Таи А	Mullai 100WG	Bensulfuron methyl
9	Хуе – Хинг Вьонг	Nativo 750WG Bassa 50EC	Trifloxystrobin 250г/л + Tebuconazole 500г/л Penobucarb 50%
10	Хо Ши Минь – Кы Чи – Фу Чунг – Фук Лой	Lorsban 30EC Hinosan	Chlorpyrifos ethyl 300г/л Edifenphos
11	Тхань Хоа – Ха Тхай – Ха Чунг	Ammate 150 SC	Indoxacarb 150г/л

Информация представлена специалистами по химической защите рисовых полей от болезней и вредителей (2009 г).

* Расположение почвенных проб см. рис. 1.

почв (ИСО 11269-1) [10] с учетом существующих модификаций для использованных в эксперименте тест-культур: семян редиса (*Raphanus sativus*, сорт Вюрцбургский) [8] и семян ячменя (*Hordeum vulgare*, сорт Раушан) [10, 11]. Фитотест основан на высокой отзывчивости формирующегося первичного корешка на токсические вещества, присутствующие в водной вытяжке из почвенного образца, в которой их проращивают.

Расчет фитотеста (ФЭ) производили по изменению значений тест-функций – длины корней (L_r) и проростка (L_p). В качестве тест-функций может использоваться высота гипокотилия/эпикотилия (подсемядольного колена/надсемядольного колена) у двудольных и длина coleoptilya у однодольных растений. Величину ФЭ, %, рассчитывали для каждого образца и каждой тест-функции по формуле:

$$\text{ФЭ} = \frac{L_{\text{опыт}} - L_{\text{контроль}}}{L_{\text{контроль}}} \times 100 \, \%.$$

Контролем служил образец, в вытяжке которого формировался первичный корешок максимальной длины по сравнению с длиной корешка проростка, развивающегося в воде (ввиду отсутствия абсолютного контроля в полевых условиях). Те-

стирование выполнено в четырехкратной повторности для каждой тест-культуры.

Агрохимическая характеристика почвенных образцов. Определение почвенной кислотности выполнено в солевой вытяжке (1 н. KCl). Содержание органического углерода определяли по Никитину. Для определения подвижного фосфора и обменного калия использовали вытяжку по Кирсанову со стандартным окончанием для каждого элемента [12].

Результаты и обсуждение. Факторы, которые влияют на показатель суммарной токсичности почвы, установленный по фитотесту, имеют разнообразную природу. Кроме веществ, которые негативно отражаются на показателях используемой тест-системы, в почве присутствуют компоненты, оказывающие и положительное воздействие. Питательные элементы, биологически активные вещества, растительные выделения, и др. оказывают определенное влияние на аллелопатическую активность агроценоза [13]. В частности, суммарная токсичность, определяемая методом биотестирования, может нивелироваться химическим составом почвы. Агрохимическая характеристика почвенных образцов, представленная в табл. 2, на наш взгляд, позволяет не только оценить потенциальную урожайность, но и адекватно

2. Агрохимическая характеристика почвенных образцов

Образец	pH _{KCl}	C, %	P ₂ O ₅ , мг/100г	K ₂ O, мг/100г
1	3,86	1,92	0,97	48,2
2	4,07	1,58	1,74	29,0
3	5,12	1,71	0,17	20,5
4	4,98	3,35	5,24	49,4
5	4,27	1,37	2,90	32,5
6	3,79	0,76	0,88	15,3
7	3,9	1,35	0,35	41,2
8	4,01	1,62	14,60	34,1
9	4,21	1,45	20,10	113,7
10	3,97	0,73	7,90	76,5
11	4,14	1,68	8,19	64,3

интерпретировать результаты фитотеста. Значения pH_{KCl} почвенных образцов колеблются в пределах от 4 до 5, т.е. почвы слабокислые, причем самое низкое значение pH_{KCl} имеет образец № 6, а самое высокое – образец № 3. Самое низкое содержание органического углерода в образцах № 6 и № 10 – менее 1%, а самое высокое в образце № 4 – более 3%; в других образцах значение этого показателя колеблется от 1,35 до 1,92%. Почвенные образцы № 1–7 очень слабо обеспечены подвижным фосфором (менее 5,0 мг/100г почвы), в образцах № 3 и № 7 содержание подвижного фосфора менее 0,5 мг/100 г. Слабо обеспечены фосфором почвенные образцы № 10 и № 11. Высокое содержание фосфора обнаружено в образцах № 8 и 9. Все почвенные образцы характеризуются высоким содержанием обменного калия, а в образце № 9 его содержание очень высокое.

Результаты биотестирования приведены в табл. 3. По результатам фитотестирования на семенах редиса (рис. 2) токсичность > 20% прояви-

лась в образцах № 3 и № 10, что свидетельствует о достоверном (в соответствии с критерием токсичности) загрязнении этих участков. На уровне 15% токсичность также проявилась в образцах № 2, 7 и 8. Токсичность по фитотесту на уровне 15–20%, свидетельствует о слабом ее проявлении. Таким образом, эффект фитотоксичности обнаруживается в почвах рисовых полей как на юге (район Тхань Хоа – Ха Чунг – Ха Лонг, почвенный образец № 3), так и на севере Вьетнама (район Хо Ши Минь – Кы Чи – Фу Чунг – Фук Лой, почвенный образец № 10). В центральной части Вьетнама (район Куанг Нам – Куе Шон – Куе Фу и район Да Нанг – Дай Лок – Дай Хынг – Чук Ха) наблюдается очень слабое проявление токсичности в почве рисовых полей.

Для ряда образцов фитотестирование повторили с использованием другой тест-культуры – ячменя, по показателям длины корневой системы и высоте coleoptилей. Пробы № 4, 7, 9 не были исследованы данным методом из-за отсутствия анализируемого материала. При использовании в качестве тест-культуры ячменя суммарная токсичность почвы (> 20%) по тест-функции роста корневой системы установлена как в пробах № 3, 10, так и в пробах № 2, 8, где ранее наблюдалась лишь тенденция к проявлению в почве суммарной токсичности, обусловленной суммой факторов. Высокая токсичность (21%) по данной тест-функции установлена в почвенном образце № 6 (рис. 3). Слабая токсичность по фитотесту проявилась в пробе № 11. Необходимо отметить, что в фитотесте на ячмене по тест-функции – формирующемуся корню по всем четырем повторностям зарегистрировано не только подавление роста корней (проба № 3), но и изменение их морфологии (проба № 2) (рис. 4). По сравнению с тест-культурой редисом, тест-культура ячмень по тест-функции *Lr*, оказалась более чувствительной к действию поллютантов. По степени выраженности ингиби-

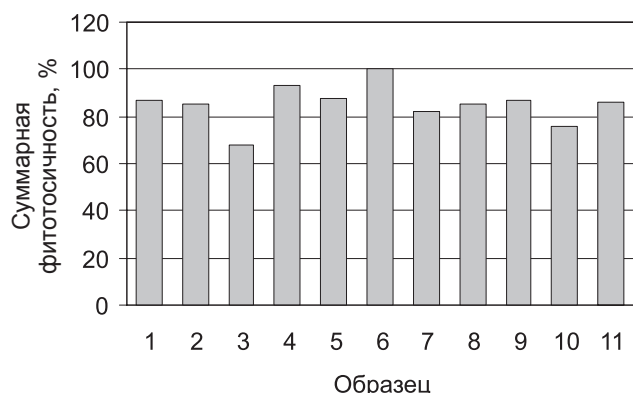


Рис. 2. Суммарная фитотоксичность анализируемых почвенных образцов (с №1 по №11) по тест-культуре редиса (*Raphanus sativus*), тест-функция – длина корней.

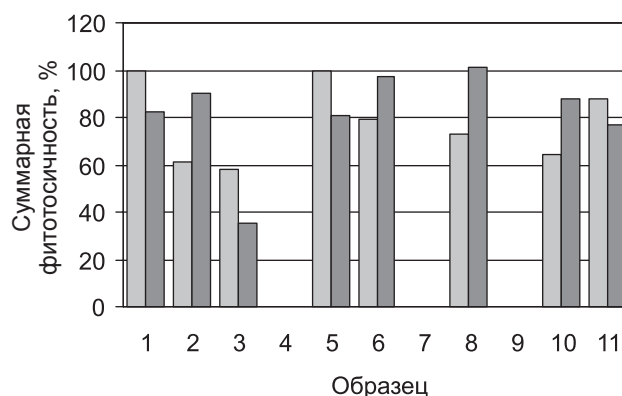


Рис. 3. Суммарная фитотоксичность некоторых анализируемых почвенных образцов по тест-культуре ячмень (*Hordeum vulgare*), тест-функциям – длина корня и высота coleoptили

3. Интегральная оценка фитотоксичности испытуемых образцов

№	Корень (редис)		Корень (ячмень)		Колеоптиль (ячмень)	
	Lr, мм	ФЭ, %	Lr, мм	ФЭ, %	Lp, мм	ФЭ, %
1	36,2 ± 3,7	87	49,8 ± 6,3	100	41,5 ± 6,7	82
2	35,2 ± 3,6	85	29,4 ± 5,4	61	45,7 ± 7,5	90
3	28,4 ± 3,2	68	27,7 ± 2,3	58	18,0 ± 4,2	35
4*	38,6 ± 4,3	93				
5	36,6 ± 2,9	88	48,3 ± 6,5	100	41,0 ± 7,0	81
6	41,6 ± 4,9	100	37,8 ± 5,2	79	49,2 ± 8,1	97
7*	34,1 ± 3,9	82				
8	35,5 ± 2,5	85	35,1 ± 6,4	73	51,3 ± 8,2	101
9*	36,3 ± 3,5	87				
10	31,6 ± 3,1	76	30,6 ± 5,9	64	44,5 ± 7,6	88
11	35,8 ± 3,9	86	42,2 ± 6,2	88	39,1 ± 5,9	77

* — обозначены образцы, проанализированные по одному показателю

рующего эффекта проанализированные образцы почв рисовых полей располагались в следующий ряд: №3 > №2 > №10 > №8 > №6. Тест-функция — высота coleoptily не проявила высокую чувствительность к токсичности и соответственно не рекомендуется для использования в качестве показателя для ее оценки. Однако в пробе № 3 и по этому показателю отмечалось существенное снижение высоты проростков (на 65%). Такое угнетение лишь дополнительно указывает на загрязнение данного образца веществами токсичными для растений (рис. 3).

Анализ полученных совокупных данных доказывает наличие фитотоксичности в четырех почвенных образцах: №№ 2, 3, 8 и 10, причем почвы данных образцов можно ранжировать по степени проявления фитотоксичности следующим образом: №3 > №10 > №2 > №8. Три образца (4, 7, 9) не вошли в совокупную оценку, т.к. для них анализ был выполнен лишь по одной тест-культуре — *R. sativus*.

Результаты фитотестирования выявляют и оценивают не только действие и последствие химикатов (пестицидов и их метаболитов), но и уровень

плодородия почвы как характеристики, коррелирующей с показателями деградации токсических веществ в почве. При интерпретации результатов необходимо помнить, что в соответствии с методикой исследования мы оценивали токсичность в водных вытяжках, и скорее всего, загрязненность диоксинами, нерастворимыми в воде, осталась почти не учтенной.

Заключение. Использование растительных тест-культур в биотестах позволяет выявить суммарную токсичность в почвах агроценоза, обусловленную совокупностью химикатов и их метаболитов.

Суммарная токсичность по фитотесту (тест-культуры: *Raphanus sativus*, *Hordeum vulgare*, тест-функция — длина корней) установлена в почвах рисовых полей районов Тхань Хоа — Ха Чунг — Ха Лонг, (почвенный образец № 3), и Хо Ши Минь — Кы Чи — Фу Чунг — Фук Лой, (почвенный образец № 10). Ингибирующий ФЭ присутствует и в почвах рисовых полей районов Куанг Нам — Куе Шон — Куе Фу (почвенный образец № 2) и Бак Лйеу — Фылк Лонг — Фонг Тхак — Таи А



Рис. 4. Визуальное проявление фитотоксичности по длине и морфологии первичного корешка *H. vulgare* (слева направо №1, №3, №2).

(почвенный образец № 8), который достоверно установлен по тест-культуре – *H. vulgare*.

Для комплексной оценки безопасности почвы и растительной продукции необходимо совершенствовать обозначенный подход биологической оценки агроценозов в плане получения более представительных проб, с экстракцией не только водорастворимых, но и жирорастворимых соединений, и использования комплекса биотестов на разнообразных тест-организмах.

Литература:

1. Бочаров Б.В., Шафрин Ю.Н. Поражение биоты в результате массированного применения гербицидов в военных целях в Южном Вьетнаме. Отдаленные биологические последствия войны в Южном Вьетнаме / Институт проблем экологии и эволюции имени А.Н.Северцова. М., 1996. – С. 17–35.
2. Окружающая среда и здоровье человека в загрязненных диоксинами регионах Вьетнама. – М.: КМК, 2011. – 270 с.
3. Клюев Н.А. Российские химики-аналитики во Вьетнаме (к 15-летию создания совместного Российско-Вьетнамского тропического научно-исследовательского и технологического центра) / Диоксины во Вьетнаме (методологические вопросы анализа, уровни загрязненности, распространение и детоксикация). – Москва–Ханой, 2003. – С. 7–17.
4. Позняков С.П., Антонюк В.В., Нгуен Куок Ан. Идентификация отдаленных медицинских последствий воздействия диоксинов и других стойких органических

суперэкоксикантов / Диоксины – суперэкоксиканты XXI века. – М.: ВИНТИ. 2003. – С. 110–132.

5. Фам Динь Тхай. Микроэлементы и эффективность микроудобрений в главных типах почв Вьетнама: дисс. д. б. н. – М., 1984. – 258 с.
6. Тарасенко И.Н. К вопросу о биотестировании // Экология и охрана окружающей среды. – 1999. – № 5. – С. 563.
7. Лисовицкая О.В., Терехова В.А. Фитотестирование: основные подходы, проблемы лабораторного метода и современные решения // Доклады по экологическому почвоведению. – 2010. – Вып. 13. – № 1. – С. 1–18.
8. Минеев В.Г., Ремпе Е.Х., Воронина Л.П. Биотест для определения экологических последствий применения химических средств защиты растений // Доклады ВАСХНИЛ. – 1992. – № 3. – С. 5–9.
9. Фридланд В.М. Почвы и коры выветривания влажных тропиков. – М.: Наука, 1964. – 230 с.
10. Фомин Г.С. Почва. Контроль качества и экологической безопасности по международным стандартам. Справочник. – М.: Протектор, 2001. – 304 с.
11. Куликова Н.А. Защитное действие гуминовых веществ по отношению к растениям в водной и почвенной средах в условиях абиотических стрессов: Автореф. дисс. ... д-ра. биол. наук. – М., 2008. – 48 с.
12. Практикум по агрохимии. – М.: Изд-во МГУ, 2001. – 689 с.
13. Гродзинский А.М. Прямые методы биотестирования почвы и метаболитов микроорганизмов / Аллелопатия и продуктивность растений. – Киев: Наукова думка, 1990. – С. 125–127.

Voronina L.P., May Thu Lan, Cheremnykh E.G.

PHYTOTOXICITY ASSESSMENT OF RICE FIELD SOILS IN VIETNAM

*The pollution of the rice fields of Vietnam is discussed in the article. The residual quantities of toxicants and their metabolites in soil samples were determined by bioassay methods. The data of laboratory bioassay of soil samples using seeds *Raphanus sativus* and *Hordeum vulgare* are presented. Total phytotoxicity of soil samples was established on the ground of integrated phytotoxicity index.*

Keywords: total toxicity, soil, biotest method.