

УДК 631.415.1:504.054

## ФИТОТЕСТИРОВАНИЕ В ОЦЕНКЕ ТОКСИЧНОСТИ ГОРОДСКИХ ПОЧВ

Прусаченко А.В., Проценко Е.П., Миронов С.Ю., Гриненко И.А., Клеева Н.А., Галяс А.В.

Ключевые слова: токсичность, биотестирование, фитотестирование, фитотоксичность, тест-функция, тест-объект, тест-организм, тест-культура, тест-реакция.

В настоящее время, в результате стремительного роста урбанизации наблюдается увеличение площади территорий, занятых под строительство городов, что приводит к уменьшению доли «живых» почв и возрастанию доли нарушенных земель. Это обстоятельство значительно ухудшает санитарно-гигиенические, экологические и биосферные функции городских ландшафтов, сопровождается серьезными нарушениями всего природного комплекса, создающими угрозу здоровью и жизни человека в городе [1].

Городским почвам уделяют особое внимание, т.к. они являются хорошим «информатором» состояния городской среды. Исходя из качественных характеристик почв, можно определить источник загрязнения, его мощность, последствия воздействия и прогноз загрязнения на будущее [2]. Одним из наиболее информативных индикационных признаков, характеризующих глубокие функциональные нарушения городских почв, является загрязнение их тяжелыми металлами [3]. Кроме того, они считаются наиболее опасными загрязнителями из-за своего сильного токсического эффекта при попадании в организм человека [4].

Действующая система контроля за загрязнением окружающей среды основана на количественном сравнении компонентного состава проб с ПДК загрязняющих веществ. Опасность техногенного воздействия оценивается на основании суммарного коэффициента техногенного загрязнения, рассчитанного в соответствии с данными валового содержания химических элементов. Такой подход является не эффективным, т.к. действие факторов при их комбинировании может ослабляться (антагонизм) или усиливаться (синергизм).

Таким образом, изолированного действия факторов не существует, есть лишь совместное действие всего комплекса, поэтому токсичность почвы не определяется токсичностью отдельных соединений, содержащихся в ней, а оценивается интегральная токсичность почвы, отражающая влияние всего комплекса [2].

Наиболее целесообразным методом определения интегральной токсичности почвы является биотестирование. Показателем степени токсичности при биотестировании служит изменение выбранной тест-функции биоиндикаторного организма при его взаимодействии с пробой среды. Успешное применение биотестирования для диагностики состояния экосистемы во многом зависит от правильного подбора тест-объекта [5]. Т.к. при определении степени токсичности методами биотестирования большое значение имеет чувствительность к токсикантам тест-организмов [6].

Одним из методов биотестирования, обладающим высокой чувствительностью, универсальностью, интегральностью и простотой является метод биотестирования с применением растений – фитотестирование [7]. Итоговым результатом определения токсичности по тест-растению (фитотоксичность) является изменение в формировании корневой системы, морфологических характеристик надземной части растения, биомассе (общей и отдельных органов растения) [8, 9].

Целью данной работы являлось выявление токсичности антропогенно преобразованных почв города Курска методом фитотестирования с использованием овса посевного (*Avena sativa* L.) и ячменя (*Hordeum vulgare* L.) в качестве тест-культур.

В задачи работы входило:

1. определить уровень загрязнения почв ТМ на выбранных объектах;
2. оценить фитотоксичность почв выбранных объектов по энергии прорастания семян и морфологическим параметрам проростков и корней овса посевного и ячменя;

Объектами исследования послужили антропогеннопреобразованные почвы г. Курска, испытывающие на себе различное по интенсивности транспортное и промышленное воздействие.

Образцы почвы для анализа отбирались в 6 различных участках города Курска. Почвы участков, с которых отбирались пробы для проведения биотестирования, исходно соответствуют антропогеннопреобразованным серым лесным почвам.

Проба № 1. Территория Знаменской рощи, за пределами города. Участок, с которого отбирались образцы почв, находится на расстоянии более 150 м от ближайшей автодороги (такое расстояние исключает попадание с воздушными массами тяжелых металлов в почву от источника загрязнения). Отобранные пробы использовались как экологический контроль.

Проба № 2. Территория парка Героев. Пробы отбирались по периметру границ парка на расстоянии 20 м от автодорог.

Проба № 3. Территория, примыкающая к заводу «Счетмаш». Пробы отбирались на газонах в 20 м от завода.

Проба № 4. Территория парка Дзержинского. Пробы отбирались по периметру границ парка на расстоянии 20 м от автодорог.

Проба № 5. Территория, примыкающая к Кожзаводу. Пробы отбирались на газонах в 20 м от завода.

Проба № 6. Территория, примыкающая к Типографии. Пробы отбирались на газонах в 20 м от предприятия.

Все почвенные образцы были отобраны и подготовлены согласно стандартным методикам пробоотбора и пробоподготовки [10].

В каждом образце почвы определялось содержание подвижных форм Pb, Cd, Cu и Zn (вытяжка ацетатно-аммонийным буфером, pH=4,8). Анализ проводился в трехкратной повторности, в трех параллельных пробах на вольтамперометрическом анализаторе ТА-4, в соответствии с МУ 31-11/05 (ФР.1.34.2005.02119; ПНД Ф 16.1:2:2:2:3.48-06) [11]. Обобщенные данные анализа приведены в таблице 1.

Таблица 1.

**Содержание подвижных форм тяжелых металлов в урбаногемах города  
Курска (вытяжка ацетатно-аммонийным буфером, pH=4,8) (мг/кг)**

№	Место отбора почвенных проб	Глубина отбора, см	Концентрация металла, мг/кг			
			Pb	Cd	Cu	Zn
1	Знаменская роща	0 – 12	4,2	0,076	1,26	5,6
2	Парк Героев	0 – 12	17,6	0,052	0,084	60,2
3	Завод «Счетмаш»	0 – 12	1,44	0,196	6,34	244,4
4	Парк Дзержинского	0 – 12	23,2	0,024	0,86	19,2
5	Кожзавод	0 – 12	38,6	0,124	0,279	125
6	Типография	0 – 12	65,2	0,172	1,93	96,4
<b>ПДК [12]</b>			<b>6,0</b>	—	<b>3,0</b>	<b>23,0</b>

Таким образом, установлено, что содержание подвижных форм Pb, Cd, Cu, и Zn в пробе № 1 не превышает ПДК, поэтому считать ее экологическим контролем. В пробе № 2 превышение ПДК по свинцу примерно в 3 раза, по цинку – в 2,5 раза; в пробе № 3 по меди – в 2 раза, по цинку – в 10,5 раз; в пробе № 4 по свинцу – в 4 раза; в пробе № 5 по свинцу – в 6,5 раз, по цинку – в 5,5 раз; в пробе № 6 по свинцу – в 11 раз, по цинку – в 4 раза.

В настоящее время для определения токсичности почв методами биотестирования используются показатели токсичности водных вытяжек из почв [5, 6, 13, 14, 15].

В качестве тест-культур для оценки фитотоксичности были выбраны: овес посевной (*Avena sativa* L.) сорта «Львовский - 72» и ячмень (*Hordeum vulgare* L.) сорта «Гонар». Они относятся к высшим растениям, эукариотам, автотрофам, продуцентам. Как тест-реакции нами учитывались энергия прорастания семян, длина ростка и длина корня. Биотестирование каждой пробы проводилось в 5 кратной повторности. Обобщенные значения длины ростка и корня, а также энергии прорастания семян приведены в таблице 2.

Таблица 2.

**Средние значения учитываемых тест-функций при биотестировании  
урбаноземов г. Курска**

В а р и а н т	Длина ростка, см		Длина корня, см		Энергия прорастания, %	
	Овес	Ячмень	Овес	Ячмень	Овес	Ячмень
Контроль – вода	1,73	4,22	3,89	8,04	92,4	77,6
Проба № 1 Знаменская роща	4,8	5,18	8,53	6,9	97,2	68,8
Проба № 2 Парк Героев	6,63	7,0	9,82	8,34	94	64,4
Проба № 3 Завод «Счетмаш»	6,41	9,14	10,11	10,4	95,6	86,8
Проба № 4 Парк Дзержинского	6,72	7,8	9,83	9,43	97,2	79,6
Проба № 5 Кожзавод	6,84	8,62	9,88	10,27	90	92
Проба № 6 Типография	7,96	9,15	13,18	8,82	92	91,2

Для получения сопоставимых результатов по итогам тестирования обычно используется индекс токсичности оцениваемого фактора (ИТФ) по формуле:

$$ИТФ = \frac{T\Phi_0}{T\Phi_k},$$

где  $T\Phi_0$  – значение регистрируемой тест-функции в опыте,  $T\Phi_k$  - значение регистрируемой тест-функции в контроле [5].

В качестве обобщенного критерия токсичности используется среднее значение величины ИТФ для каждого объекта, которое рассчитывается по формуле:

$$ИТФ_{cp} = \frac{(ИТФ_1 + ИТФ_2 + ИТФ_3 + \dots + ИТФ_n)}{n},$$

где ИТФ<sub>ср</sub> – среднее значение индекса токсичности, ИТФ<sub>1</sub>, ИТФ<sub>2</sub>, ИТФ<sub>3</sub> и т.д. - индекс токсичности, рассчитанный для каждого тест-объекта; n – количество тест-объектов, задействованных в эксперименте для конкретного участка [5].

Значения ИТФ и ИТФ<sub>ср</sub> приведены в таблице 3.

**Таблица 3.**

**Значения ИТФ и ИТФ<sub>ср</sub> для почв г. Курска**

Вариант	Аналитический контроль						Экологический контроль						Общая токсичность объекта (ИТФ <sub>ср</sub> )	
	Овес			Ячмень			Овес			Ячмень				
	Энергия прорастания	Длина ростка	Длина корня	Энергия прорастания	Длина ростка	Длина корня	Энергия прорастания	Длина ростка	Длина корня	Энергия прорастания	Длина ростка	Длина корня	По АК*	По ЭК**
Проба № 1	1,05	1,07	1,09	0,89	1,03	0,86	—	—	—	—	—	—	1,0	—
Проба № 2	1,02	3,83	2,52	0,83	1,66	1,04	0,97	1,38	1,15	0,93	1,35	1,2	1,82	1,16
Проба № 3	1,03	3,7	2,6	1,12	2,17	1,29	0,98	1,34	1,19	1,26	1,76	1,51	1,99	1,34
Проба № 4	1,05	3,88	2,53	1,03	1,85	1,17	1,0	1,4	1,15	1,16	1,51	1,37	1,92	1,27
Проба № 5	0,97	3,95	2,54	1,19	2,04	1,28	0,93	1,43	1,16	1,34	1,66	1,49	2,0	1,34
Проба № 6	0,99	4,6	3,39	1,18	2,17	1,1	0,95	1,66	1,55	1,33	1,77	1,28	2,24	1,42

\*Аналитический контроль (АК) – в качестве контроля служат семена, замоченные в отстоявшейся водопроводной воде;

\*\*Экологический контроль (ЭК) – в качестве контроля служат семена, замоченные в вытяжке из незагрязненной почвы (проба № 1 – территория Знаменской роши).

Полученные данные сопоставляют со шкалой токсичности предложенной Кабировым Р.Р. и др. (1997) [5] в модификации Багдасаряна А.С. (2005) [16] относительно градации VI класса токсичности.

**Таблица 4.**

**Шкала токсичности (Кабиров и др., 1997; Багдасарян, 2005)**

Класс токсичности	Величина ИТФ	Пояснения
VI (стимуляция) - значительная	>1,60	Фактор оказывает стимулирующее действие на тест-объекты.

- выраженная - заметная - средняя - слабая	1,50 – 1,60 1,50 1,11–1,40 1,10	Величина тест-функции в опыте превышает контрольное значение
V (норма)	0,91 – 1,10	Фактор не оказывает существенного влияния на развитие тест-объектов. Величина тест-функций находится на уровне контроля
IV (низкая токсичность)	0,71 – 0,90	
III (средняя)	0,50 – 0,70	Разная степень снижения величины тест функций в опыте по сравнению с контролем
II (высокая)	<0,50 (ниже индекса LD <sub>50</sub> , принятого в токсикологии)	
I (сверхвысокая, вызывающая гибель тест-объекта)	Среда не пригодна для жизни тест-объекта	Наблюдается гибель тест-объектов

По результатам расчета среднего значения индекса токсичности (с использованием аналитического контроля) проба № 1 соответствует V классу токсичности. Для проб № 2-6 при расчете среднего ИТФ, как с использованием аналитического контроля, так и экологического контроля видно, что почвы каждого участка, согласно шкале представленной в таблице 5, соответствуют VI классу токсичности, т.е. оказывают стимулирующее действие на выбранные тест-объекты. Причем, согласно модификации Багдасаряна А.С. (2005) пробы № 2-6 оказывают значительную стимуляцию на тест-объекты. Относительно экологического контроля все пробы оказывают среднюю стимуляцию на тест-объекты.

Таким образом, нами был проведен количественный анализ уровня загрязнения выбранных объектов. По результатам этого анализа можно сказать,

что если учитывать содержание каждого, превышающего ПДК, поллютанта в отдельности, то исследуемые почвы можно считать достаточно загрязненными.

С целью определения интегральной токсичности выбранных объектов было проведено фитотестирование. По результатам биотестирования выявлено, что все объекты оказывают значительное или среднее стимулирующее действие (в зависимости от использования значений тест-функции аналитического или экологического контроля при расчете ИТФ) на тест-объекты, что не соответствует норме токсичности (V класс), где фактор не оказывает существенного влияния на тест-объект и величина учитываемых тест-функций находится на уровне контроля. Поэтому почвы выбранных участков можно считать токсичными.

Разработанные и разрабатываемые в настоящее время подходы, критерии и методы определения опасности для биоты техногенных загрязнений, различающихся по качественному и количественному составу поллютантов имеют огромное значение для науки. Так теоретическая важность таких исследований состоит в том, что они, наряду с экспериментами в лабораторных условиях, дают возможность совершенствовать знания о механизмах и закономерностях формирования реакции биологических систем на совместное действие факторов разной природы, способствуют разработке корректных, научно обоснованных критериев и методов оценки опасности факторов окружающей среды, позволяют вырабатывать единые методологические подходы, используемые для защиты окружающей среды.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сизов А.П., Медведева О.Е., Ключев Н.Н., Строганова М.Н., Самаев С.Б., Малеев И.М. О новом подходе к исчислению размера ущерба, вызываемого захламлением, загрязнением и нарушением городских земель // Почвоведение. – 2001. – № 6. – С. 732-740.

2. Обухов А.И., Плеханова И.О., Кутукова Ю.Д., Афонина Е.Б. Тяжелые металлы в почвах и растениях Москвы // Экологические исследования в Москве и Московской области. – М., 1990. – С. 148-162.

3. Шунелько Е.В., Федорова А.И. Экологическая оценка городских почв и выявление уровня токсичности тяжелых металлов методом биотестирования // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2003. – № 2. – С. 93-104.

4. Сает Ю.Е., Сорокина Е.П. Основы геохимических методов контроля загрязнения урбанизированных территорий по техногенным аномалиям в почвах // Труды института экспериментальной метеорологии. – Вып. 13. – 1985. – С. 35-46.

5. Кабиров Р.Р., Сагитова А.Р., Суханова Н.В. Разработка и использование многокомпонентной тест-системы для оценки токсичности почвенного покрова городской территории // Экология. – 1997. – № 6. – С. 408-411.

6. Маячкина Н.В., Чугунова М.В. Особенности биотестирования почв с целью их экотоксикологической оценки // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Биология. – 2009. – № 1. – С. 84-93.

7. Шабалина О.М., Демьяненко Т.Н. Фитотестирование городских почв с помощью салата посевого (*Lactuca sativa*) и клевера белого (*Trifolium repens*) // Проблемы современной аграрной науки. Материалы международной заочной научной конференции. – Красноярск, 2008. – С. 84-92.

8. Булгаков Н.Г. Контроль природной среды как совокупность методов биоиндикации, экологической диагностики и нормирования // Проблемы окружающей среды и природных ресурсов: Обзорная информация. ВНИТИ. – 2003. – № 4. – С. 33-70.

9. Мотузова Г.В., Безуглова О.С. Экологический мониторинг почв. – М.: «Гаудеамус», 2007. – 237 с.

10. ГОСТ 17.4.3.01-83 Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб. 01.07.1984.

11. Количественный химический анализ проб почв, тепличных грунтов, илов, донных отложений, сапропелей, твердых отходов. Методика выполнения измерений массовых концентраций цинка, кадмия, свинца, меди, марганца, мышьяка, ртути методом инверсионной вольтамперометрии на анализаторах типа ТА. МУ 31-11/05 (ФР.1.34.2005.02119; ПНД Ф 16.1:2:2:2:3.48-06). – Томск, 2005. – 48 с.

12. Почва, очистка населенных мест, бытовые и промышленные отходы, санитарная охрана почвы. Гигиеническая оценка качества почвы населенных мест. Hygienic evaluation of soil in residential areas. Методические указания МУ 2.1.7.730-99. Утв. главным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 07. 02. 1999 г. Введена 05. 04. 1999 г.

13. Методика определения токсичности почвы и донных осадков по хемотаксической реакции инфузорий. ПНД ФТ 16.2:2.2-98. – М., 1998. – 12 с.

14. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. ФР.1.39.2001.00283. – М.: Акварос, 2001. – 47 с.

15. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний. ФР.1.39.2001.00282. – М.: Акварос, 2001. – 51 с.

16. Багдасарян А.С. Биотестирование почв техногенных зон городских территорий с использованием растительных организмов: Автореферат дис. ... канд. биол. наук. – Ставрополь, 2005. – 25 с.