

## Эффективность методов биотестирования при оценке состояния почв в зоне локального загрязнения техногенным минеральным фосфором

© 2008. А.С. Олькова<sup>1</sup>, Т.Я. Ашихмина<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Региональный центр государственного экологического контроля и мониторинга по Кировской области,

<sup>2</sup> Вятский государственный гуманитарный университет,  
e-mail: ecolab@vshu.kirov.ru

Методами биотестирования определена токсичность растворов пиррофосфата и фосфата натрия: показано, что пиррофосфат натрия сильнее воздействует на тест-объекты. В условиях полевого опыта изучено влияние минерального техногенного фосфора (на примере пиррофосфата натрия) на токсичность почв. Проведена оценка эффективности методик биотестирования, допущенных для целей государственного экологического контроля, при загрязнении почв техногенным фосфором. Сделан вывод о том, что наиболее эффективными оказались методики с использованием тест-системы «Эколюм» и тест-объектов *Paramecium caudatum*.

With the use of biotesting methods natrium pyrophosphate and phosphate solutions toxicity is stated. It is shown that the influence of natrium pyrophosphate on test-objects is stronger. During the field experiment the influence of mineral technogenic phosphorus (by the example of natrium pyrophosphate) on soil toxicity is considered. Efficiency of biotesting methodics accepted for the purpose of state ecological control of technogenic phosphorus soil contamination is estimated. The conclusion is drawn that the most effective methodics are those with the use of the test-system «Ecolym» and the test-objects *Paramecium caudatum*.

Ключевые слова: биотестирование, тест-объекты, техногенный фосфор

### Введение

Минеральные фосфорные соединения широко применяются в промышленности и сельском хозяйстве. Их значение трудно переоценить. Однако эти вещества, по воле человека включаемые в биогеохимический круговорот, в зависимости от масштабов использования могут оказать локальное, региональное, а также глобальное воздействие на окружающую среду.

Антропогенные источники фосфорных соединений представлены в основном отвалами руд, удобрениями, ПАВами, промышленными выбросами некоторых предприятий. Соединения фосфора, попадающие в окружающую среду вследствие добывающей, перерабатывающей, сельскохозяйственной и иной деятельности человека, можно назвать антропогенным фосфором.

Антропогенный фосфор выступает как один из индукторов эвтрофикации водоёмов, изменения химических, биохимических, микробиологических свойств почв [1]. В противовес мнению о том, что поступление соединений фосфора антропогенного происхождения не имеет негативных последствий, существует иная позиция. Например, доказано [2], что фосфат-ионы обладают высокой лигандной активностью. Особенно сильными комп-

лексообразователями являются техногенные фосфорные соединения, в том числе пиррофосфаты. Это определяет педохимическую судьбу не только самого фосфора, но и других почвенных элементов.

Следовательно, обоснованно предположение, что промышленные выбросы, содержащие минеральный техногенный фосфор, могут оказать дестабилизирующее действие на окружающую среду.

Этот вопрос актуален для Кировской области, где многие годы хранилось и в настоящее время уничтожается химическое оружие. Масса фосфорорганических отравляющих веществ, подлежащих уничтожению на объекте «Марадыковский» составляет около 7 тысяч тонн. Уничтожение химического оружия осуществляется в два этапа. На первом этапе происходит нейтрализация отравляющего вещества типа-Vx в боеприпасах, а зарина и зомана в реакторах. На втором этапе происходит сжигание образующихся реакционных масс с их деструкцией до минеральных соединений, среди которых фосфат калия, фосфорный ангидрид и пиррофосфат натрия.

Наше внимание в возможных выбросах объекта уничтожения химического оружия (ОУХО) привлёк пиррофосфат натрия (ПФН), который среди твёрдых отходов объекта занимает второе место по массе элиминации после

сажи [3]. Техногенный фосфор предприятия может попасть в окружающую среду преимущественно в виде твёрдых аэрозолей, которые аккумулируются в почве за счёт непосредственной седиментации на её поверхности, либо при биологической деструкции листового опада. Необходимость изучения влияния пирофосфата натрия возникла в силу неоднозначных литературных данных о воздействии данного вещества на окружающую среду и живые организмы. Известно свойство пирофосфатов гидролизываться в среде с образованием фосфатов [4], которые потребляются растениями и почвенной биотой. Однако время жизни и, соответственно, возможность влияния на почву пирофосфатов как экополлютантов не изучены.

Для оптимизации комплексного экологического мониторинга зоны влияния ОУХО нами поставлена цель: определить эффективность методов биотестирования при оценке состояния почв в зоне локального загрязнения техногенным минеральным фосфором. Реализация этой цели обеспечилась путём:

- сравнения токсичности модельных (химически чистых) растворов пирофосфата натрия и фосфата натрия.
- адекватного выбора тест-объектов, чувствительных к загрязнению пирофосфатами.

### Объекты и методы исследований

В рамках изучения пирофосфата натрия как компонента возможного техногенного загрязнения зоны влияния ОУХО проводилась оценка степени его влияния на живой организм в сравнении с фосфатами.

Возможная токсичность растворов различной концентрации чистых веществ  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  (пирофосфат натрия) и  $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  (фосфат натрия) оценивалась методом биотестирования. Диапазон исследуемых концентраций пирофосфата натрия для каждого тест-объекта определяли в предварительном эксперименте исходя из условия, что подавление жизнедеятельности тест-организмов, выраженное в индексе токсичности, должно быть значимой величиной, то есть отличной от 0 и 100% подавления. Сравнимые между собой растворы содержали одинаковое количество фосфат- и пирофосфат-ионов. В качестве тест-объектов были выбраны бактерии тест-системы «Эколюм» и инфузории *Paramecium caudatum* [5, 6]. Проводилось тестирование свежеприготовленных растворов,

а также растворов через 48 часов и через 96 часов после их приготовления. Это позволило выявить степень снижения токсичности пирофосфата натрия вследствие гидролиза данной соли в растворе.

Для решения задачи по адекватному выбору тест-объектов, способных дать отклик на техногенный минеральный фосфор, потребовалось моделирование загрязнения почвы пирофосфатом натрия. Был заложен микроделяночный полевой опыт на трёх площадках с типичными для зоны воздействия объекта почвами. Опытная площадка с подзолистыми песчаными почвами (Пп) находилась на расстоянии 1,5 км до объекта и представляла лесной фитоценоз (сосновый лес). Площадка с дерново-подзолистыми супесчаными почвами (П<sup>чу</sup>) удалена от объекта на 2,8 км, представляла суходольный луг. Опытная площадка с аллювиальными среднесуглинистыми почвами (А) также располагалась на луговом участке 3,5 км от ОУХО.

Выбранные нами почвы характерны для подзоны средней и южной тайги. Например, в Кировской области подзолы занимают 35% территории края, а дерново-подзолистые – 45%. Пойменные почвы (аллювиальные) располагаются по долинам рек – 5,6% площади области [7, 8].

Доза внесения пирофосфата натрия соответствовала уровню предельного выпадения (ПВ) пирофосфата натрия на поверхность почвы, который рассчитывался исходя из предположения, что весь фосфор, входящий в состав ФОВ, будет при сжигании продуктов детоксикации выброшен в атмосферу в форме пирофосфата натрия. Расчёт производился при помощи компьютерной программы, разработанной на основе работы [9] с учётом розы ветров, расстояния и направления от источника выброса до площадки.

Расчётные дозы предельного выпадения (ПВ) пирофосфата натрия следующие: для подзолистой почвы 1 ПВ составило 4,9 г ПФН на 1 м<sup>2</sup> поверхности почвы, для дерново-подзолистой – 4,5 г/м<sup>2</sup>, для аллювиальной – 5,26 г/м<sup>2</sup>.

Опыт включал 3 варианта: контроль, внесение 1 ПВ и 10 ПВ пирофосфата натрия. Контролем служили пробы почв с делянок без внесения пирофосфата. Размещение вариантов в опыте систематическое. Опыт выполнен в четырёхкратной повторности, заложен в конце мая. Почва находилась под естественной растительностью, скошенной только непосредственно при закладке опыта. Смешанные образцы почвы с опытных

делянок отбирались согласно основным генетическим горизонтам, свойственным каждому типу исследуемых почв. На площадке с подзолистой почвой пробы отбирались по трём горизонтам почвенного профиля:  $A_0$  – лесная подстилка мощностью 2 – 3 см,  $A_1$  – грубогумусовый горизонт мощностью 3 см,  $A_2$  – подзолистый горизонт мощностью до 10 см. На площадках, представляющих дерново-подзолистые и аллювиальные почвы, для исследования были отобраны образцы двух почвенных горизонтов.  $A_d$  ( $A_1$ ) – мощностью 5 – 7 см,  $A_2$  – мощностью 10 – 15 см.

Пробоотбор образцов почвы производили через 10 и 90 дней после внесения поллютанта.

Биотестирование модельных растворов и образцов почв с опытных площадок проводили согласно методикам выполнения измерений, относящихся к биологическим методам контроля, допущенных для целей государственного экологического контроля и внесенных в федеральный реестр [5, 6, 10, 11].

Одна из методик, тест-система «Эколюм» [5], предполагает использование культуры люминесцентных бактерий-биосенсоров серии «Эколюм», содержащихся в среде инертных газов в специальных стеклянных флаконах. Методика основана на определении изменения биолюминесценции бактерий при воздействии химических веществ, присутствующих в пробе, по сравнению с контролем. Данный показатель отражается в значении индекса токсичности  $T$ , по величине которого пробу относят к одной из групп токсичности (табл. 1).

В следующей методике в качестве тест-объекта используются инфузории – *Paramecium caudatum* [6]. Метод определения

токсичности основан на установлении параметра поведенческой хемотаксической реакции инфузорий с помощью прибора из серии «Биотестер». Пробы классифицируются по степени токсичности (табл. 2).

Токсичность исследуемых образцов почв определялась по смертности дафний (*Daphnia magna*) в исследуемой почвенной вытяжке, по сравнению с контрольной культурой в пробе, не содержащей токсических веществ [10]. Данный метод биотестирования является одним из наиболее часто используемых в производственной и научной практике.

Кроме того, для определения токсичности проб использовалась тест-культура зелёной одноклеточной водоросли *Chlorella vulgaris* [11]. Критерием токсичности является изменение оптической плотности культуры по сравнению с контрольным вариантом через 22 часа экспозиции в почвенной вытяжке и её разбавленных растворах. Согласно методике качество тестируемой среды устанавливается через величину биологически безопасного разбавления (табл. 3).

Полученные данные обрабатывали общепринятыми статистическими методами. Результаты анализов выражали в виде среднеарифметических значений из  $n$ -го числа проб и стандартного отклонения. Достоверность расхождения средних результатов определяли при помощи критерия Стьюдента для уровня значимости  $=0,05$ .

### Результаты и их обсуждение

Биотестирование модельных растворов пирофосфата и фосфата натрия показало, что тест-организмы проявляют различную

Таблица 1

Классификация проб, тестируемых по тест-системе «Эколюм», по группам токсичности

Интервал индекса токсичности $T$ , у.е.	Группа токсичности
$0 < T < 20,00$	Группа I. Проба не токсична
$20,1 < T < 49,99$	Группа II. Проба средне токсична
$T > 50,00$	Группа III. Проба сильно токсична

Таблица 2

Классификация проб, тестируемых по тест-объекту *Paramecium caudatum*, по группам токсичности

Интервал индекса токсичности $T$ , у.е.	Группа токсичности
$0 < T < 0,40$	Группа I. Допустимая степень токсичности
$0,41 < T < 0,70$	Группа II. Умеренная степень токсичности
$T > 0,71$	Группа III. Высокая степень токсичности

Таблица 3

Токсикологические характеристики качества испытуемой водной вытяжки из почвы

Концентрация тестируемой вытяжки (%), при которой превышен критерий токсичности	Качество пробы
100	Слаботоксичная
33	Среднетоксичная
11	Токсичная
3,7	Сильнотоксичная
1,2	Гипертоксичная

Таблица 4

Оценка уровня токсичности растворов пиродифосфата и фосфата натрия по тест-объекту *Paramecium caudatum*

Концентрация пиродифосфата, г/л / Концентрация фосфата, г/л	Индексы токсичности растворов Т, у.е.					
	Свежеприготовленные растворы		Через 48 часов		Через 96 часов	
	1	2	1	2	1	2
0,4 / 0,624	0,89±0,02	0,85±0,03	0,67±0,07	0,80±0,05	0,47±0,06	0,78±0,04
0,35 / 0,546	0,71±0,03	0,58±0,09	0,49±0,05	0,55±0,02	0,38±0,05	0,52±0,02
0,30 / 0,468	0,53±0,06	0,31±0,05	0,40±0,03	0,31±0,04	0,30±0,04	0,25±0,05
0,27 / 0,421	0,44±0,06	0,27±0,05	0,31±0,05	0,25±0,02	0,26±0,04	0,23±0,03
0,25 / 0,39	0,40±0,08	0,22±0,02	0,27±0,05	0,18±0,01	0,23±0,03	0,10±0,01
0,23 / 0,358	0,34±0,05	0,20±0,02	0,21±0,02	0,16±0,01	0,19±0,04	0,10±0,01
0,20 / 0,312	0,32±0,05	0,16±0,02	0,19±0,01	0,11±0,02	0,15±0,03	0
0,15 / 0,234	0,30±0,04	0,12±0,01	0,17±0,01	0	0,07±0,01	0
0,1 / 0,156	0,29±0,04	0	0,16±0,01	0	0	0

Примечание: 1 – пиродифосфат натрия; 2 – фосфат натрия.

реакцию на исследуемые вещества, причём индексы токсичности (индекс Т) растворов пиродифосфата на протяжении всего эксперимента оставались значительно выше в сравнении с растворами фосфатов. Результаты

исследования представлены (табл. 4, 5; рис. 1, 2).

По полученным данным видно, что при первом измерении индексы Т пиродифосфата оказались более чем в 2 раза выше данного

Таблица 5

Оценка уровня токсичности растворов пиррофосфата и фосфата натрия по тест-системе «Эколюм»

Концентрация пиррофосфата, г/л / Концентрация фосфата, г/л	Индексы токсичности растворов Т, у.е.					
	Свежеприготовленные растворы		Через 48 часов		Через 96 часов	
	1	2	1	2	1	2
0,02 / 0,031	41,30±8,09	25,27±4,95	18,74±3,67	13,42±2,63	14,72±2,88	13,51±2,56
0,019 / 0,029	38,71±7,59	22,51±4,41	15,62±3,06	11,97±2,35	13,35±2,62	11,54±2,26
0,018 / 0,0279	35,55±6,97	19,82±3,88	12,03±2,36	9,35±1,83	11,14±2,18	9,84±1,93
0,017 / 0,026	32,47±6,36	17,61±3,45	9,30±1,82	7,00±1,37	9,20±1,80	6,81±1,34
0,016 / 0,0248	29,12±5,71	15,45±3,03	7,47±1,46	5,72±1,12	6,27±1,13	6,05±1,19
0,015 / 0,0232	26,88±5,27	12,41±2,43	5,81±1,14	3,08±0,60	4,23±0,83	3,17±0,62
0,014 / 0,0217	23,77±4,66	10,52±2,06	3,35±0,66	1,22±0,24	1,99±0,39	1,13±0,22
0,013 / 0,02	21,08±4,13	9,11±1,79	1,43±0,28	0,00	0,96±0,19	0,00
0,012 / 0,0186	17,96±3,52	9,25±1,62	0,00	0,00	0,00	0,00
0,011 / 0,017	15,68±3,07	7,11±1,39	0,00	0,00	0,00	0,00
0,01 / 0,0155	13,77±2,70	6,05±1,19	0,00	0,00	0,00	0,00

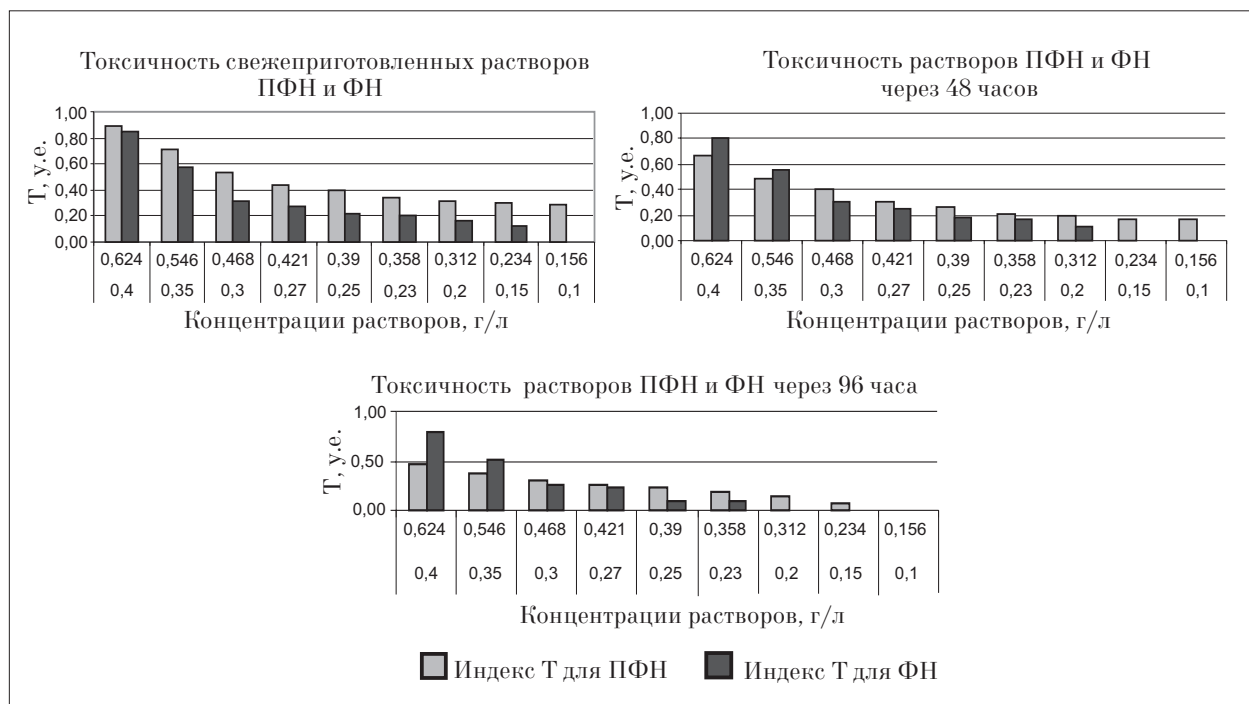
Примечание: 1 – пиррофосфат натрия; 2 – фосфат натрия.

показателя для фосфата. Это выявили оба используемых тест-объекта. При испытании модельных сред через 48 и 96 часов растворы пиррофосфата угнетают тест-организмы значительно, чем растворы фосфата натрия. Различия достоверны.

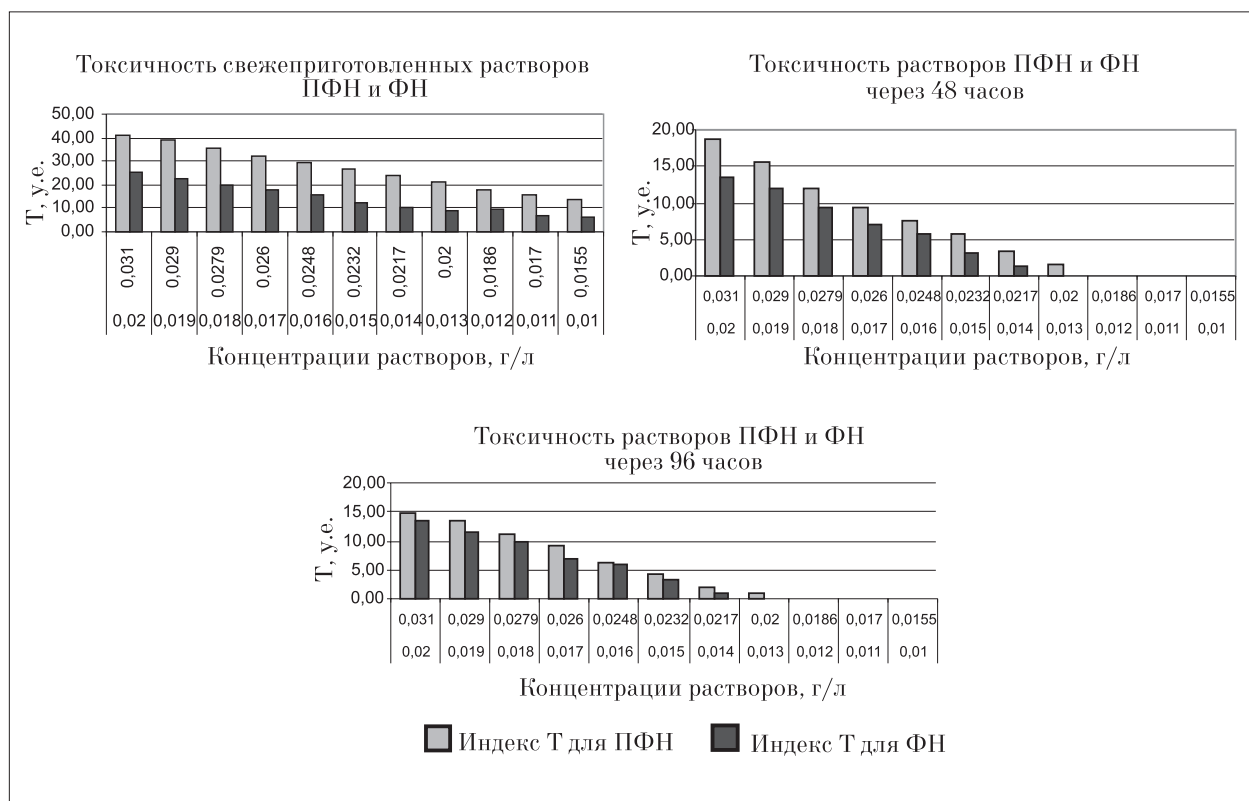
Следует отметить, что при концентрациях веществ, вызывающих угнетение тест-объектов, близкое к 100%, различия между исследуемыми солями недостоверны. Это явление закономерно, так как при достаточно высоких концентрациях солей в тестиру-

емой среде на первый план выступает не токсичность ионов, а осмотические свойства среды.

Выше отмечалось, что пиррофосфат и фосфат подвергаются гидролизу. При биотестировании через определённые промежутки времени это выразилось в уменьшении индексов токсичности, то есть гидролитический распад минеральных фосфорных соединений приводит к снижению негативного влияния на живые организмы. Данный эксперимент показал, насколько быстро идёт этот процесс.



**Рис. 1.** Различия и изменения токсичности растворов пиррофосфата и фосфата натрия во времени по тест-объекту *Paramecium caudatum*. (По оси абсцисс: верхние значения – концентрации растворов ФН, нижние значения – ПФН)



**Рис. 2.** Различия и изменения токсичности растворов пиррофосфата и фосфата натрия во времени по тест-системе «Эколюм». (по оси абсцисс: верхние значения – концентрации растворов ФН, нижние значения – ПФН)

Тестирование с помощью *Paramecium caudatum* выявило снижение токсичности растворов пирофосфата натрия через 48 часов в 1,3 – 1,8 раз, и через 96 часов сохраняется та же тенденция. Уменьшение значений индекса Т растворов фосфата натрия при тех же условиях не так значительно.

На тест-системе «Эколюм» исследовались растворы с концентрацией действующего вещества практически на порядок меньшей, чем при тестировании на инфузориях, так как бактерии оказались более чувствительны к тестируемым растворам солей. Вещества в меньших концентрациях гидролизуются быстрее, о чём свидетельствует то, что основное снижение токсичности для бактерий произошло через 48 часов. Индексы Т для растворов фосфата через 96 часов не имеют достоверных отличий от значений, полученных через 48 часов, тогда как токсичность растворов пирофосфата натрия продолжает достоверно снижаться. Это говорит о том, что уже через 48 часов процесс гидролиза фосфата натрия практически подошёл к концу, а гидролиз пирофосфата продолжается. Кинетическая устойчивость пирофосфата натрия (в сравнении с фосфатом) по отношению к гидролитическому распаду способствует проявлению токсических свойств в окружающей среде.

Таким образом, установлено, что пирофосфаты действительно могут оказать негативное влияние на окружающую среду, в частности, на микробный комплекс почв.

Результаты изучения воздействия пирофосфата натрия на почвы района эксплуатации ОУХО в условиях полевого опыта подтверждают это предположение.

Биотестирование почвы, загрязнённой минеральным техногенным фосфором, представляет особый интерес, поскольку в системе нормирования загрязнения почвы содержание фосфатов не регламентируется. В связи с этим методы биотестирования могут помочь отразить силу техногенного пресса на экосистемы почв.

Образцы почвы, отобранные нами на опытных делянках, проходили биотестирование по четырём описанным выше методикам [5, 6, 10, 11].

В результате проведённых исследований удалось выяснить, что из трёх тест-объектов, использованных для биотестирования, *Daphnia magna* показала наименьшую чувствительность к пирофосфату натрия. Откло-

нения от контроля обнаружены только в пробах с лесного участка (подзолистая почва): в горизонте  $A_0$  показатель погибших дафний составил  $30 \pm 0\%$ , в горизонте  $A_1$  –  $23,3 \pm 9,3\%$ . Согласно используемой методике [10] данные пробы не оказывают острого токсического действия, однако не могут считаться безвредными.

Результаты биотестирования проб почв с использованием тест-объекта хлорелла крайне сложно интерпретировать: все пробы показали стимуляцию роста численности клеток водоросли в опытных вариантах по сравнению с методическим контролем, то есть почва без внесения пирофосфата натрия и с внесением поллютанта по данной методике может быть отнесена к токсичной. Наиболее токсичным (сильнотоксичные и гипертотоксичные пробы по классификации методики) оказался грубогумусовый горизонт подзолистой почвы. Образцы, взятые на загрязнённых и незагрязнённых делянках дерново-подзолистой и аллювиальной почв, оказались токсичными и среднетоксичными. Таким образом, провести достоверное сравнение контрольных и опытных вариантов полевого опыта по данной методике не удалось. Полученные нами данные вполне согласуются с выводами исследователей, работающих с хлореллой: признан факт того, что для характеристики качества водной вытяжки из почвы критерий токсичности по стимуляции некорректен [12]. Объясняется это тем, что содержание в почве подвижных элементов питания, переходящих в водную вытяжку, – дополнительный фактор роста и развития водоросли. В нашем случае внесение минерального техногенного фосфора не только не явилось лимитирующим фактором развития культуры, но даже способствовало стимуляции роста.

В то же время тест-объекты *Paramecium caudatum* и бактерии системы «Эколюм» показали высокую чувствительность к исследуемому загрязнению. Результаты биотестирования представлены (табл. 6, 7; рис. 4, 5, 6).

Почва без внесения исследуемого загрязняющего вещества на всех опытных площадках оказалась не токсичной по тест-объектам *Paramecium caudatum* (группа «допустимая степень токсичности») и бактериям.

Биотестирование почвы (*Paramecium caudatum*), отобранной на делянках с внесением 1 расчётной дозы пирофосфата натрия, показало, что все пробы обладают умеренной степенью токсичности. Однако значения индекса токсичности заметно возросли по срав-

Таблица 6

Оценка уровня токсичности почвы при загрязнении её пиррофосфатом натрия по тест-объекту *Paramecium caudatum*

Вариант		Значения индекса токсичности Т в исследуемых образцах, у.е.		
		Контроль	1 ПВ	10 ПВ
Подзолистая почва	A <sub>0</sub>	0,15±0,04 <sup>1</sup>	0,26±0,07 <sup>1</sup>	0,65±0,04 <sup>2</sup>
	A <sub>1</sub>	0,14±0,02 <sup>1</sup>	0,23±0,01 <sup>1</sup>	0,36±0,12 <sup>1</sup>
	A <sub>2</sub>	0,12±0,02 <sup>1</sup>	0,21±0,02 <sup>1</sup>	0,31±0,08 <sup>1</sup>
Дерново-подзолистая	A <sub>1</sub>	0,13±0,08 <sup>1</sup>	0,11±0,05 <sup>1</sup>	0,41±0,05 <sup>2</sup>
	A <sub>2</sub>	0,08±0,01 <sup>1</sup>	0,28±0,02 <sup>1</sup>	0,44±0,06 <sup>2</sup>
Аллювиальная почва	A <sub>1</sub>	0,17±0,02 <sup>1</sup>	0,37±0,09 <sup>1</sup>	0,44±0,06 <sup>2</sup>
	A <sub>2</sub>	0,09±0,01 <sup>1</sup>	0,17±0,04 <sup>1</sup>	0,25±0,06 <sup>1</sup>

Примечание: 1 – Группа I. Допустимая степень токсичности; 2 – Группа II. Умеренная степень токсичности; 3 – Группа III. Высокая степень токсичности.

Таблица 7

Оценка уровня токсичности почвы при загрязнении её пиррофосфатом натрия по тест-системе «Эколюм»

Вариант		Значения индекса токсичности Т в исследуемых образцах, у.е.		
		Контроль	1 ПВ	10 ПВ
Подзолистая почва	A <sub>0</sub>	20,45±2,35 <sup>1</sup>	55,22±10,82 <sup>2</sup>	64,00±12,5 <sup>3</sup>
	A <sub>1</sub>	19,74±3,87 <sup>1</sup>	54,55±10,69 <sup>2</sup>	55,62±10,9 <sup>3</sup>
	A <sub>2</sub>	4,70±0,92 <sup>1</sup>	29,97±5,86 <sup>2</sup>	48,30±9,47 <sup>3</sup>
Дерново-подзолистая	A <sub>1</sub>	1,80±0,35 <sup>1</sup>	16,49±3,23 <sup>1</sup>	30,94±6,03 <sup>2</sup>
	A <sub>2</sub>	1,60±0,30 <sup>1</sup>	25,99±5,09 <sup>2</sup>	42,02±8,04 <sup>2</sup>
Аллювиальная почва	A <sub>1</sub>	16,55±3,24 <sup>1</sup>	30,50±5,97 <sup>2</sup>	30,46±5,97 <sup>2</sup>
	A <sub>2</sub>	10,30±1,45 <sup>1</sup>	33,89±6,64 <sup>2</sup>	41,25±8,08 <sup>2</sup>

Примечание: 1 – Группа I, проба не токсична; 2 – Группа II, проба средне токсична; 3 – Группа III, проба обладает высокой токсичностью.

нению с контрольными вариантами. Наибольшее увеличение индекса Т отмечалось в горизонте A<sub>2</sub> дерново-подзолистой почвы – в 3,5 раза по сравнению с контролем. В остальных образцах токсичность по сравнению с пробами без внесения ЗВ увеличивалась в 1,7 – 2,2 раза, кроме образца горизонта A<sub>2</sub> аллювиальной почвы, где значимого изменения токсичности не отмечалось. Это можно объяснить высокой сорбционной способностью горизонта A<sub>1</sub> аллювиальной почвы за счёт преобладания глинистой фракции в гранулометрическом составе и повышенного содержания полуторных окислов железа и алюминия, спо-

собных образовывать комплексы со многими соединениями [7, 13].

Тест-система «Эколюм» оказалась чувствительнее *Daphnia magna* и *Paramecium caudatum* к пиррофосфату натрия. Пробы с делянок, загрязнённых одной расчётной дозой пиррофосфата (1 ПВ), по тест-системе «Эколюм» обладают средней степенью токсичности, кроме одного варианта (дерново-подзолистая почва, горизонт A<sub>1</sub>), см. табл. 6. Наибольшее увеличение токсичности (примерно в 16 раз) по сравнению с контролем отмечалось на площадке, представляющей дерново-подзолистую почву, в горизонте A<sub>2</sub>. Это



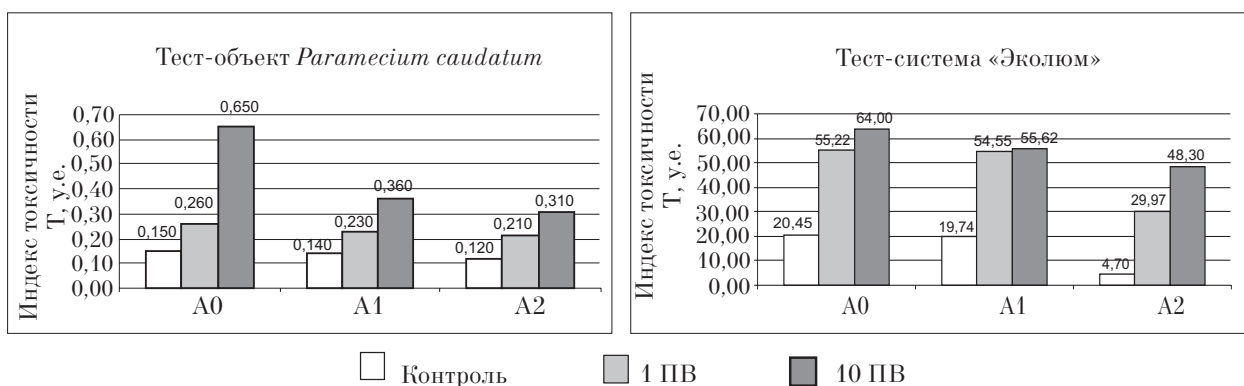


Рис. 3. Изменение уровня токсичности подзолистой почвы через 10 дней после внесения ПФН по тест-системе «Эколюм» и тест-объекту *Parametium caudatum*

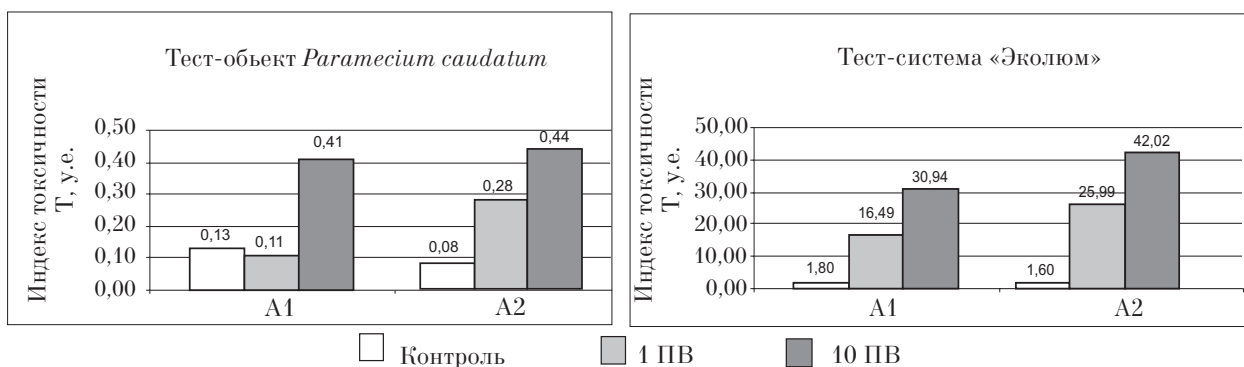


Рис. 4. Изменение уровня токсичности дерново-подзолистой почвы через 10 дней после внесения ПФН по тест-системе «Эколюм» и тест-объекту *Parametium caudatum*

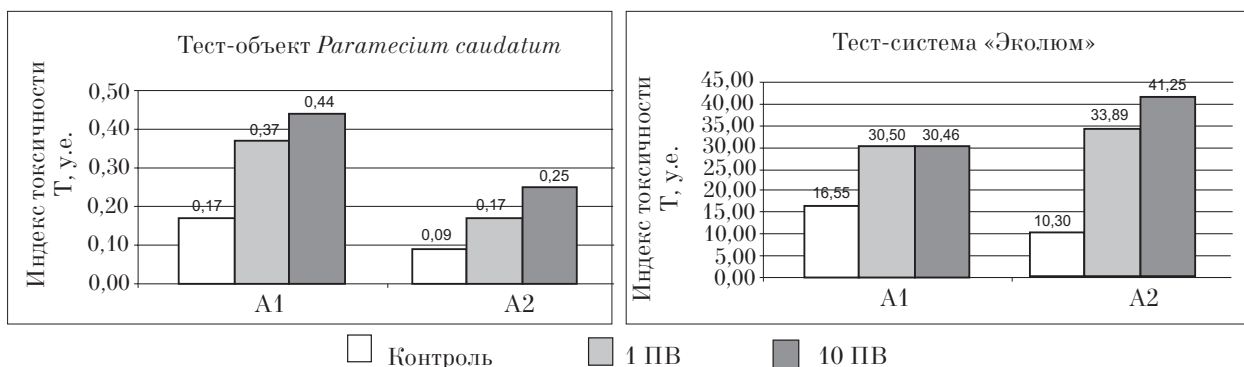


Рис. 5. Изменение уровня токсичности аллювиальной почвы через 10 дней после внесения ПФН по тест-системе «Эколюм» и тест-объекту *Parametium caudatum*

свидетельствует о низкой буферной ёмкости данной почвы: поллютант за 10 дней экспозиции проник в нижележащие почвенные горизонты, что отразилось в большей токсичности горизонта  $A_2$  по сравнению с горизонтом  $A_1$ .

Авторы [14] при исследовании чувствительности различных тест-объектов к арсениту натрия ранее отмечали, что бактерии являются более чувствительным тест-объектом, чем инфузории, что согласуется с полученными нами данными.

При внесении 10 расчётных доз (10 ПВ) пиррофосфата натрия значения индекса токсичности и по тест-системе «Эколюм», и по тест-объекту *Parametium caudatum* значительно отличались от контроля (табл. 6, 7; рис. 3, 4, 5).

По хемотоксической реакции инфузорий нами выявлено увеличение токсичности почвы в 2,6 – 5,5 раз по сравнению с контрольными вариантами. Наибольшее отклонение индекса Т от контроля наблюдалось при тестировании образцов дерново-подзо-

листой почвы, взятых с горизонта  $A_2$ . Тестирование проб подзолистой почвы выявило, что из трёх исследуемых горизонтов после загрязнения наиболее токсичной стала лесная подстилка ( $A_0$ ). Можно сказать, что это явление закономерно, так как наибольшей сорбционной способностью в профиле подзолистых почв обладают верхние горизонты.

Тестирование проб аллювиальной почвы после внесения 10 расчётных доз исследуемого вещества выявило большее увеличение индекса токсичности в горизонте  $A_2$  (в 2 раза), чем в горизонте  $A_1$ . При внесении 1 расчётной дозы наблюдалась противоположная картина, что также можно объяснить сорбционными свойствами изучаемой почвы: насыщение ионообменного комплекса почвы даёт возможность пирофосфату натрия двигаться вниз по почвенному профилю [4, 7, 13].

Результаты тестирования проб по тест-системе «Эколюм» сходятся с данными, полученными при помощи инфузорий. Горизонт  $A_2$  дерново-подзолистой почвы также оказался наиболее токсичным из всех образцов: индекс Т в варианте с загрязнением 10 расчётными дозами (10 ПВ) равен 42 у. е. против 1,8 у. е. в контрольном варианте.

Аллювиальная почва также проявила в горизонте  $A_2$  большую токсичность по сравнению с пробой горизонта  $A_1$ . Как и при тестировании на инфузориях, эта разница составила около 2 раз.

Следует отметить, что угнетение биолюминесценции бактерий под действием вытяжек из почв, загрязнённых пирофосфатом натрия, оказалось значительнее, чем воздействие тех же проб на хемотаксическую реакцию инфузорий. К примеру, пробы с внесением 10 расчётных доз вещества обладали по тест-системе «Эколюм» средней и высокой степенью токсичности. Тем не менее корреляция между результатами, полученными по этим методикам, оказалась высокой: коэффициент  $r=+0,72$ .

Исходя из проанализированных данных можно сделать вывод о том, что из всех тестируемых проб наибольшей токсичностью по сравнению с контрольными вариантами обладали образцы горизонта  $A_2$  дерново-подзолистой почвы. Это связано с тем, что данному опытному участку присущ лёгкий механический состав почвы. Как известно, бедность тонкодисперсными механическими элементами (физическая глина и ил) значительно снижает сорбционные свойства почвы [13]. В условиях промывного режима вне-

сённый нами токсикант проникал вглубь почвенного профиля.

При биотестировании почвы, отобранной через 90 дней после внесения ПФН, достоверных различий контрольных и опытных вариантов не удалось выявить. Отсутствие выраженного эффекта в конце вегетационного периода является закономерным, так как за 90 дней пирофосфат натрия существенно гидролизался, образованные в результате фосфаты и гидрофосфаты включились в биологический круговорот.

### Выводы

Биотестирование модельных растворов с использованием различных тест-объектов позволило установить следующее:

1. Растворы пирофосфата натрия значительно токсичнее модельных растворов фосфата натрия (соблюдается условие одинакового содержания действующих анионов). Например, токсичность свежеприготовленных растворов ПФН в 2 и более раз больше токсичности растворов ФН.

2. Тест-система «Эколюм» оказалась на порядок чувствительнее тест-объектов инфузорий к пирофосфату натрия, что определило интервал концентраций тестируемых растворов.

3. Среди используемых тест-объектов инфузории и бактерии тест-системы «Эколюм» оказались наиболее чувствительными к загрязнению минеральным техногенным фосфором и дали дифференцированную оценку токсичности изучаемых образцов. Для водоросли хлорелла, по всей видимости, данное загрязнение лимитирующим не оказалось, а стимуляция роста культуры при экспозиции в водной вытяжке тестируемой почвы вызвана не только внесением вещества, но и наличием в почве доступных элементов питания. Причём отсутствие достоверных различий между опытными и контрольными образцами свидетельствует о нивелировании действия вещества за счёт избытка питательных веществ. По тест-объекту *Daphnia magna* большинство исследуемых проб почв острого токсического действия не оказывают. Следовательно, низшие ракообразные обладают низкой чувствительностью к минеральному техногенному фосфору.

4. Среди почв, характерных для зоны влияния ОУХО «Марадыковский», дерново-подзолистые супесчаные являются наименее устойчивыми к загрязнению техногенным фосфором вследствие низкой буферности.

Это качество способствует проникновению поллютанта вниз по почвенному профилю и создаёт возможность загрязнения подземных вод.

5. Наиболее устойчивы к изучаемому фактору аллювиальные среднесуглинистые почвы. Установлено, что при относительно незначительном загрязнении (1ПВ) верхний горизонт таких почв способен сорбировать вещество, не позволяя ему проникать в глубь почвенного профиля.

Таким образом, наиболее эффективными среди рассмотренных методов биотестирования для оценки состояния почв в зоне локального загрязнения техногенным минеральным фосфором оказались методики с использованием тест-системы «Эколюм» и тест-объектов *Paramecium caudatum*.

### Литература

1. Гроссман Г.Н. Сукцессия сообщества почвенных микроорганизмов в удобренной и неудобренной лабораторной микроэкосистеме // Микроорганизмы в сельском хозяйстве. Кишенёв, 1988. С. 30-31.
2. Кудеярова А.Ю. Лигандная активность техногенных фосфатов и снижение эффективности барьеров в циклах химических элементов // Экспериментальная экология. М.: Наука, 1991. С. 133-165.
3. Проект нормативов предельно допустимых выбросов для 1205 объектов ХУХО. Саратов, 2007.
4. Гинзбург К.Е. Фосфор основных типов почв СССР. М.: Наука, 1981. 244 с.
5. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению интенсивности бактериальной биоломнессценции тест-системой «Эколюм». МПР РФ. М.: 2004. 16 с.
6. Методика определения токсичности проб вод (природных, хозяйственно-питьевых, промышленных сточных) экспресс-методом с применением прибора «Биотестер». Санкт-Петербург: Спектр-М, 2005. 13 с.
7. Тюлин В.В., Гущина А.М. Особенности почв Кировской области при интенсивном земледелии. Киров, 1991. 92 с.
8. Тюлин В.В. Почвы Кировской области. Киров. 1976. 288 с.
9. Борзилов В.А., Сенилов Н.Б. Модель выпадения загрязняющих веществ промышленного происхождения на почву // Загрязнение атмосферы и почвы: Труды Института экспериментальной метеорологии. М: Гидрометеиздат, 1977. С. 26-36.
10. Жмур Н.С. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. М.: Акварос, 2001. 48 с.
11. Методика определения токсичности проб поверхностных, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных вытяжек их почвы, осадков сточных вод и отходов по изменению оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris Beijer*), ФР.1.39.2004.01143, Красноярск: КрасГУ, 2004.
12. Бородина Н.В., Панфилова И.В., Дабах Е.В. Биотестирование проб почв с использованием микроводоросли хлорелла // Проблемы региональной экологии: Матер. Всерос. науч.-практ. конференции в 2 част. Ч. 1. Киров: Изд-во ВятГГУ, 2007. С. 110-116.
13. Ackermann F. Procedure for correcting the grain size effect in heavy metal analyses // Environmental technology. 1980. Lett. 1. N. 518-527.
14. Чупис В.Н., Лушай Е.А., Ларин И.Н., Загреков А.А., Ильина Е.В., Иванов Д.Е. Чувствительность к арсениту натрия тест-организмов, используемых в многокомпонентной системе биотестирования качества природных сред // Теоретическая и прикладная экология. 2007. №1. С. 69-73.