

## ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПОЧВОГРУНТОВ КАРЬЕРОВ НА ТЕРРИТОРИИ ВОДОСБОРА Р. НЕВЫ МЕТОДАМИ ФИТОТЕСТИРОВАНИЯ

*Т.В. Бардина, В.И. Бардина*

Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН, bardinatv@mail.ru

Представлены результаты экотоксикологической оценки почвогрунтов рекультивированного карьера, расположенного в Приневской низменности и имеющего гидравлическую связь с р. Невой, полученные с помощью методов лабораторного фитотестирования. Были применены авторская и общепринятые методики определения острой фитотоксичности, которые совместно с химико-аналитическими методами обеспечивают достоверную оценку экологического состояния загрязненных почвогрунтов. Установлена высокая чувствительность авторского контактного метода фитотестирования на данном объекте.

*Ключевые слова:* почвогрунты, экотоксичность, фитотестирование, тест-культура, аттестованные методики.

## ENVIRONMENTAL CONTROL OF THE BORROW SOILS OF CAREERS IN THE TERRITORY OF THE CLEANAGE OF THE NEVA RIVER BY METHODS OF PHYTOTESTING

*T.V. Bardina, V.I. Bardina*

Saint-Petersburg Scientific-Research Centre for Ecological Safety RAS

The results of the ecotoxicological assessment of the borrow soils of the reclaimed quarry located in the Prinevskaya lowland and having a hydraulic connection with the Neva River are presented. The ecotoxicological assessment was carried out by the methods of laboratory phytotesting. The author's and generally accepted methods for determining acute and chronic phytotoxicity were used, which, together with chemical analytical methods, provide a reliable assessment of the ecological state of contaminated soils. When determining the soils' acute toxicity the sensing response of an author's contact method of phytotesting on wheat seeds was received.

*Keywords:* borrow soils, ecotoxicity, phytotesting, test culture, certified methods.

### Введение

Загрязнение окружающей среды приобретает комплексный характер в связи с разнообразием загрязняющих веществ. Традиционно для экологического контроля почвогрунтов используют методы химического анализа, который позволяет устанавливать концентрации определенных загрязнителей и сравнивать их с существующими санитарно-гигиеническими нормативами (ПДК и ОДК). Однако ограниченный список действующих нормативов без учета характера использования

земель, содержание в исследуемых почвогрунтах большого количества загрязняющих веществ неизвестного состава и возможность их совместного влияния, в результате которого действие каждого из них может усиливаться или ослабевать, не позволяют дать точный экологический прогноз только на основе химических определений [11, 13]. Установлено также, что химический мониторинг не всегда позволяет выявить реальную угрозу, связанную с присутствием тяжелых металлов в почвенном покрове, которые являются главными загрязнителями почвенного покрова [13]. Поэтому в настоящее время при оценке экологического состояния загрязненного почвенного покрова необходим подход, основанный на методологии междисциплинарного уровня, который учитывает данные не только химических исследований, но и токсикологических, проводимых с помощью биотестирования [7, 14, 16]. Согласно национальным стандартам [8, 9], определение класса опасности отхода проводится на основании детального химико-аналитического анализа, выполненного совместно с проведением серии биотестов на живых организмах разного уровня организации. Однако решающая роль в определении класса опасности принадлежит токсикологическим показателям, полученных с помощью методов биотестирования.

Биотестирование относится к интегральным методам оценки состояния природных сред, в том числе загрязненных почвогрунтов: с помощью тест-организмов регистрируется суммарное токсическое действие загрязнителей и дается быстрый индикаторный сигнал о токсичности в анализируемом объекте. Кроме того, в большинстве случаев биотестирование дает информацию о появлении негативных изменений до появления видимых изменений в экосистеме.

В почвогрунтах объектов, где образовались очаги загрязнения со сложным составом токсикантов, содержится большое количество загрязняющих веществ неизвестного состава, обладающих кумулятивным токсическим эффектом, что не позволяет сделать достоверный экологический прогноз только на основе химических определений. Эти трудности можно преодолеть, если в систему экологического контроля почвенного покрова включать методы биотестирования [18]. В настоящее время методы биотестирования стали востребованными в экологических исследованиях. Поставлена задача разработать новые методы биотестирования, а также определить возможности применения разных биотест-систем для целей экологического контроля конкретных объектов [6, 17]. Реакция тест-организма на одно и то же загрязняющее вещество зависит не только от самого организма, но и от особенностей пробы, поэтому для реализации этой задачи необходим сравнительный результат биотестирования объекта с применением широкого набора биотест-систем. Разработка оптимального набора биотест-систем, с помощью которого можно точно и в короткие сроки оценить экологическое состояние почвенного покрова, является актуальной научной задачей.

Среди широкого круга тест-организмов большой интерес для биотестирования почв представляют растения, которые могут чутко реагировать на изменения условий среды. Фитотестирование, проводимое в лабораторных условиях, где с помощью растений выявляется токсичность объекта, является разновидностью биотестирования. Принцип метода фитотестирования заключается в регистрации

тест-параметров растений, вегетирующих на исследуемом субстрате, по сравнению с контрольным вариантом. Лабораторные методы фитотестирования отличаются экспрессностью, доступностью, простотой эксперимента, экономичностью, хорошей воспроизводимостью и достоверностью полученных результатов. Эта разновидность биотестирования получила широкое распространение в исследовательских проектах и для решения практических экологических задач как наиболее дешевый и оперативный метод [10]. Методы лабораторного фитотестирования активно внедряются в экологические исследования [6]. В РФ применение фитотестов в природоохранных целях регламентируется Ростехнадзором, Роспотребнадзором и другими органами. Для повышения достоверности полученных результатов указывается на необходимость использования аттестованных методик, т.е. включенных в Госреестр.

Существует два способа лабораторного фитотестирования: элюатный (анализ водной вытяжки) и контактный (аппликатный, субстратный), который обеспечивает контакт тест-культуры с твердыми частицами образца. Элюатное фитотестирование выявляет наличие растворимых токсикантов, которые могут поступать в сопредельные среды из образца, и дает возможность определить острую токсичность образца (за 3—7 дней). В связи с тем, что при исследовании водных экстрактов можно получить заниженный результат из-за присутствия в субстрате нерастворимых загрязняющих веществ, целесообразно проводить фитотестирование также на твердом образце [1, 3, 12]. Контактное фитотестирование производится в основном по международным стандартным методикам (ISO 11269-2, ISO 22030:2005, US EPA, OCSPP 850.4230, OECD Test.No.208). В них срок экспозиции эксперимента составляет 14—21 сут, поэтому их можно отнести к методам определения хронической фитотоксичности. Особенностью отечественной методической базы является отсутствие методики контактного метода фитотестирования. Поэтому в Научно-исследовательском центре экологической безопасности РАН была разработана методика контактного фитотестирования, которая включена в Федеральный реестр методик по токсикологическим методам контроля [4].

Целью настоящего исследования является обоснование возможности использования разных методов лабораторного фитотестирования для экологической оценки почвогрунтов таких специфических объектов с набором большого числа токсикантов, как рекультивированные карьеры с применением ТБО.

### **Объект исследования и методы**

Объектом исследования являлся почвогрунт карьера, образовавшегося после добычи строительных материалов и расположенного на правом берегу р. Невы (рис. 1).

Рекультивация выведенного из эксплуатации обводненного карьера была произведена с использованием отсыпки суглинистым грунтом в смеси с частично разложившимися твердыми бытовыми отходами (ТБО). На территории карьера в настоящее время зафиксирован высокотоксичный дренажный сток, поступающий по гидрографической сети в р. Неву. Воды дренажного стока по результатам

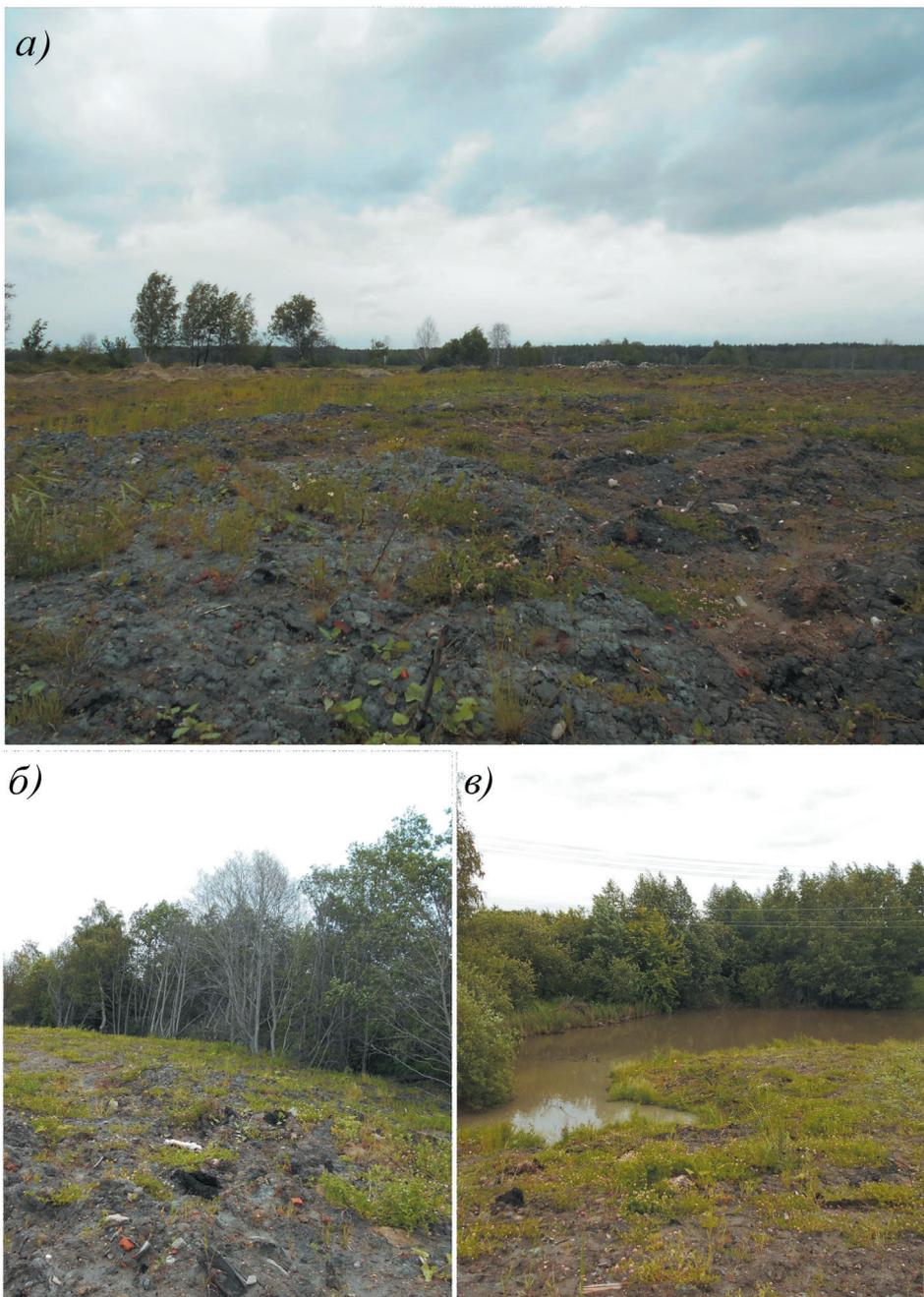


Рис. 1. Мониторинговые площадки на территории карьера.

*a* — № 1, *б* — № 2, *в* — № 3.

химического анализа являются опасно загрязненными, что связано с появлением погребенных источников сероводородного загрязнения на территории карьера [2]. Таким образом, со временем образовался своеобразный (вторичный) объект накопленного экологического ущерба. По данным Комитета по природным ресурсам Ленинградской области, на территории водораздела р. Невы выявлено около 200 таких объектов.

По результатам определения содержания валовых форм тяжелых металлов почвогрунт карьера относится к умеренной категории загрязнения. Содержание таких органических токсикантов, как нефтепродукты и бенз(а)пирен, не превышает соответствующие нормативы и фон [2].

На объекте были выбраны три площадки (5×5 м), различающиеся гетерогенностью по рельефу (см. рис. 1).

Отбор смешанных проб с площадки осуществлялся с горизонтов 0—5 и 5—20 см согласно ГОСТ 17.4.4.02-84.

Для выявления острой токсичности авторами было проведено элюатное фитотестирование на семенах двух тест-культур: на овсе *Avena sativa* (рекомендованное Минздравом [5] и включенное в норматив СП 2.1.7.1386-03 [9]) и на редисе *Raphanus sativus* [15].

Фитотест водной вытяжки на семенах овса основан на способности семян адекватно реагировать на химическое воздействие путем изменения прорастания (тест-функция: длина корней). Порогом фитотоксичности является превышение длины корней в образце по сравнению с контролем ( $E$ ) более чем на 20 %:

$$E = [(X_c - X_s) / X_c] \cdot 100 \%,$$

где  $X_s$  и  $X_c$  — средние значения длины корней проростков в образце и контроле (дистиллированной воде).

Фитотест на семенах редиса выявляет наличие острой токсичности в исследуемом образце по ингибированию длины корня через 3 сут. Уровень фитотоксичности ( $T$  %) рассчитывается по отношению к контрольной пробе:

$$T = [(L_o - L_x) / L_o] \cdot 100 \%,$$

где  $L_o$  — средняя длина корешков проростков в контрольном опыте,  $L_x$  — средняя длина корешков проростков, выращенных на исследуемой среде.

В методике контактного фитотестирования [1] в качестве тест-культуры используется пшеница мягкая (*Triticum aestivum* или *Hordeum vulgare*) и определяются два тест-параметра (всхожесть и длина корня):  $N_1$  — изменение всхожести семян испытываемой почвы по отношению к контрольной пробе (%);  $N_2$  — изменение длины корня проростка испытываемой почвы по сравнению с контрольной пробой (%). С нашей точки зрения отсутствие оценочной шкалы токсичности в методиках по фитотестированию затрудняет использование их в мониторинговых исследованиях. В данной методике на измеряемых тест-параметрах разработана шкала степеней острой токсичности техногенно-загрязненных почв:

V — практически не токсичные ( $0 < N_1 \leq 20$ ;  $0 < N_2 \leq 20$ );

IV — малотоксичные ( $0 < N_1 \leq 20$ ;  $20 < N_2 \leq 50$ );

III — умеренно токсичные ( $20 < N_1 \leq 70$ ;  $50 < N_2 \leq 70$ );



Рис. 2. Стадии прорастания семян пшеницы в ходе фитотестирования.

II — опасно токсичные ( $70 < N_1 < 100$ ;  $70 < N_2 < 100$ );

I — высоко опасно токсичные ( $N_1 = N_2 = 100$ ).

В качестве контроля используется почва (почвогрунт), не подвергавшаяся техногенному воздействию и имеющая сходные с исследуемым образцом гранулометрический состав и содержание гумуса. Срок экспозиции составляет 7 сут. Процедура биотестирования не трудоемка и проводится в чашках Петри (рис. 2).

### Результаты исследования

В результате проведенного фитотестирования водных экстрактов из почвогрунтов на семенах овса было выявлено присутствие токсичности на одной площадке (№ 1, глубина 5—20 см). В других случаях эффект торможения не превышал 20 %; следовательно, эти образцы не обладали токсичностью по данному тест-организму (табл. 1).

Таблица 1

Результаты фитотестирования водных вытяжек из проб на семенах овса

Номер пробы	Глубина, см	Средняя длина корней, мм	$t_d$	$E$ %	Тест-реакция
Контроль		22,5±1,5	—	—	Норма
1	0—5	22,2±1,8	0,17	1,3	Норма
1	5—20	15,1±0,8	3,73	32,9	Эффект торможения
2	0—5	23,1±2,1	0,25	2,7	Норма
2	5—20	20,1±1,1	1,74	10,7	Норма
3	0—5	23,3±2,4	0,55	3,6	Норма
3	5—20	18,6±0,9	2,22	17,3	Норма

*Примечание.* Контроль — дистиллированная вода; приведены среднее значение ± ошибка;  $t_d$  — коэффициент достоверности,  $E$  — фитозффект.

Фитотоксическое действие почвогрунтов на семена редиса проявилось в основном в стимуляции роста корня (7,4—31,2 %), а слабое ингибирование роста (на 18,8 %) фиксировалось только на площадке № 2 (глубина 0—5 см) (табл. 2). Таким образом, хотя при фитотестировании на семенах редиса на площадке № 1

не было выявлено наличия токсичности, ввиду избирательной чувствительности разных тест-культур фиксировалась токсичность на семенах овса. Можно отметить, что фитотестирование на семенах редиса оказалось нечувствительным на данном объекте.

Таблица 2

Результаты элюатного фитотестирования образцов почвогрунта на семенах редиса

Номер площадки	Глубина, см	Всхожесть			Длина корня			Степень токсичности
		Среднее, %	$N$	$t_d$	Среднее, мм	$T\%$	$t_d$	
Контроль		90,0±3,5	—	—	42,0±1,5	—	—	—
1	0—5	82,5±1,8	-8,3	1,90	55,1±0,8	+31,2	7,60	Стимуляция роста
	5—20	85,0±7,1	-6,1	0,63	38,0±5,4	-9,5	0,70	Нет токсичности
2	0—5	82,5±1,8	-8,3	1,90	34,1±1,2	-18,8	4,57	Слабая токсичность
	5—20	90,0±0	0	0	53,8±0,1	+28,1	7,77	Стимуляция роста
3	0—5	100,0±0	+11,1	2,83	48,4±4,2	+15,2	1,43	Стимуляция роста
	5—20	80,0±3,5	-11,1	2,0	45,1±0,4	+7,4	1,98	Стимуляция роста

*Примечание.* Контроль — дистиллированная вода; приведены средние значения ± ошибка;  $N$  — степень изменения всхожести по сравнению с контрольным образцом;  $T$  — изменение длины корня;  $t_d$  — коэффициент достоверности;  $t_{st}$  — коэффициент Стьюдента:  $t_{st} = 2,78$ ;  $n = 3$ ,  $P = 0,95$ .

Токсикологический анализ, проведенный с помощью авторской методики фитотестирования на семенах пшеницы, позволил выявить наличие токсичности сразу на двух площадках на глубине 0—20 см: на площадке № 1 умеренная степень токсичности, где было зафиксировано также наличие токсичности на семенах овса, и на площадке № 3 малая степень токсичности, где элюатным фитотестированием токсичность не была выявлена (табл. 3).

Таблица 3

Результаты контактного фитотестирования образцов почвогрунта на семенах пшеницы

Номер площадки	Глубина, см	Всхожесть			Корень			Степень токсичности
		Среднее, %	$N_1$	$t_d$	Среднее, мм	$N_2$	$t_d$	
Контроль 1		90,0±3,5	—	—	42,2±3,4	—	—	—
1	0—5	78,3±4,1	-13,0	2,16	32,0±6,5	-24,2	1,40	IV — малотоксичные
	5—20	60,0±0	-33,3	8,49	22,0±4,2	-47,8	3,73	III — умеренно токсичные
2	0—5	91,7±2,0	-1,9	0,41	34,7±3,1	-17,7	1,63	V — практически не токсичные
	5—20	90,0±9,4	0	0	36,9±3,1	-12,6	1,16	V — практически не токсичные
Контроль 2		87,5±5,3	—	—	32,9±0,7	—	—	—
3	0—5	70,0±5,3	-20,0	2,67	28,1±1,3	-14,3	3,11	IV — малотоксичные
	5—20	70,0±2,0	-20,0	2,67	31,4±3,2	-4,5	0,33	IV — малотоксичные

*Примечание.* Приведены средние значения ± ошибка,  $N$  — степень изменения контролируемого параметра (длины корней проростка или всхожести семян) по сравнению с контрольным образцом,  $t_d$  — коэффициент достоверности;  $t_{st}$  — коэффициент Стьюдента:  $t_{st} = 2,78$ ; контроль — чистый почвогрунт;  $n = 3$ ,  $P = 0,95$ .

### Заключение

С помощью методов лабораторного фитотестирования было выявлено наличие острой токсичности почвогрунта ранее обводненного карьера, расположенного в Приневской низменности и рекультивированного с использованием технологии отсыпки грунтом с применением ТБО.

Было показано, что различные тест-культуры, применяемые при установлении острой фитотоксичности, имеют неравную чувствительность к широкому спектру токсикантов, присутствующих в почвогрунте исследуемого объекта. Достаточно чувствительный отклик был получен при применении авторского метода контактного фитотестирования на семенах пшеницы.

Установлено, что при оценке экологического состояния почвогрунтов объектов вторичного накопленного экологического ущерба методы элюатного фитотестирования должны использоваться вместе с методами контактного фитотестирования для экотоксикологической оценки загрязненных почвогрунтов. Конечная оценка токсичности почвогрунта должна осуществляться по наиболее чувствительному варианту.

При несовершенстве санитарно-гигиенической нормативной базы для содержания химических элементов в почвах, фитотестирование в рамках биотестирования помогает выявить суммарное присутствие токсичных веществ в почвогрунтах объектов вторичного накопленного экологического ущерба. Методы лабораторного фитотестирования, являющиеся чувствительными, доступными и экспрессными в выполнении, должны служить начальным звеном в оценке экологического состояния почвогрунтов для раннего выявления токсичности на объекте.

### Список литературы

1. Бардина Т.В., Кулибаба В.В., Чугунова М.В., Бардина В.И. Диагностика экотоксичности почв промышленных объектов прошлого экологического ущерба с помощью биотест-систем // Проблемы региональной экологии. 2016. № 2. С. 20—25.
2. Кулибаба В.В., Петухов В.В., Зинатулина Е.И., Меринова Е.С. Рекультивированные карьеры Приневской низменности — специфическая разновидность объектов накопленного экологического ущерба // Региональная экология. № 1(43). 2016. С. 7—13.
3. 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.
4. Методика выполнения измерений всхожести семян и длины корней проростков высших растений для определения токсичности техногенно загрязненных почв. ФР.1.39.2006.02264.
5. МР.2.7.2297-07. Обоснование класса опасности отходов производства и потребления по фитотоксичности.
6. Николаева О.В., Терехова В.А. Совершенствование лабораторного фитотестирования для экотоксикологической оценки почв // Почвоведение. 2017. № 9. С. 1141—1152.
7. Олькова А.С. Биотестирование в научно-исследовательской и природоохранной практике России // Успехи современной биологии. 2014. Т.134, №6. С. 614—622.
8. Приказ Минприроды РФ от 04.12.2014 №536 «Об утверждении критериев отнесения отходов к I-V классам опасности по степени негативного воздействия на окружающую среду».
9. СП. 2.1.7.1386-03. Санитарные правила по определению класса опасности токсичных отходов и потребления.

10. Терехова В.А., Воронина Л.П., Николаева О.В., Бардина Т.В., Калмацкая О.А., Кирюшина А.П., Учанов П.В., Креславский В.Д., Васильева Г.К. Применение фитотестирования для решения задач экологического почвоведения // Использование и охрана природных ресурсов в России. 2016. № 3. С. 37—41.
11. Тынынбаева Т.Г., Костина Н.В., Терехов А.М., Кураков А.В. Микробиологическая активность и токсичность нефтезагрязненных сорowych солончаков и насыпных грунтов на месторождении Северные Бузачи (Казахстан) // Почвоведение. 2008. № 10. С. 1258—1267.
12. Фомин Г.С., Фомин А.Г. Почва. Контроль качества и экологической безопасности по международным стандартам. Справочник. М.: Протектор, 2001. 304 с.
13. Alvarenga P., Palma P., de Varennes A., Cunha-Queda A.C. A contribution towards the risk assessment of soils from the São Domingos Mine (Portugal): Chemical, microbial and ecotoxicological indicators // Environ. Pollut. 2012, 161. P. 50 —56.
14. Bardina T.V., Chugunova M.V., Kulibaba V.V., Polyak Y.M., Bardina V.I., Kapelkina L.P. Applying bio-assay methods for ecological assessment of the soils from the brownfield sites // Water Air Soil Pollut. 2017. P. 228:351. DOI: 10.1007/s11270-017-3521-3
15. ISO 11269-2:2012. Soil quality – determination of the effects of pollutants on soil flora. Part 2: Effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants. 2012. 19 p.
16. Linkov I., Sattestrom F.K., Kiker G., Batchelor C., Bridges T., Ferguson E. From comparative risk assessment to multi-criteria decision analysis and adaptive management: recent development and applications // Environ. Int. 2006, 32. P. 1072 —1093.
17. Matejczyk M., Grazyna A.P., Nalecz-Jawecki G., Ulfig K., Markowska-Szczupak A. Estimation of the environmental risk posed by landfills using chemical, microbiological and ecotoxicological testing of leachates // Chemosphere. 2011, 82. P. 1017 — 1023.
18. Terekhova V.A., Pukalchik M.A., Yakovlev A.S. The triad approach to ecological assessment of urban soils // Eurasian Soil Science. 2014, 47 (9). P. 952—958.