

УДК: 574.21+57.044

ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ПРОБ УРБАНОЗЕМОВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

© 2016 А.И. Фокина¹, Л.И. Домрачева^{2,3}, А.С. Олькова¹, С.Г. Скугорева^{1,2},
Е.И. Лялина¹, Г.И. Березин¹, Л. В. Даровских¹

¹Вятский государственный университет

²Институт биологии Коми научного центра УрО РАН

³Вятская государственная сельскохозяйственная академия

Статья поступила в редакцию 13.05.2016

Выбор методов биодиагностики влияет на оценку качества окружающей среды. У образцов урбаноземов, загрязненных соединениями тяжелых металлов до опасных уровней, методами биоиндикации установлены структурные изменения в альго-циано-микологических комплексах, связанные с увеличением доли меланизированных форм грибов и цианобактериального компонента этих комплексов. Тестирование водных вытяжек из образцов показало закономерное угнетение дегидрогеназной активности у цианобактерий рода *Nostoc*. Среди экспресс-методов биотестирования тест по двигательной активности *Paramecium caudatum* наиболее информативен. Биотест по тест-системе «Эколюм» оказался не чувствителен. Обсуждается проблема интерпретации результатов биодиагностики в условиях низкой биодоступности тяжелых металлов за счет буферных свойств почв.

Ключевые слова: урбаноземы, тяжелые металлы, биотестирование, биоиндикация, токсичность, устойчивость почвы, органическое вещество

Биодиагностика состояния окружающей среды включает в себя множество методов, позволяющих установить совместимость исследуемой среды с обитанием в ней живых организмов. Варьирование степени проявления их ответных реакций на сложившееся загрязнение позволяет судить о его величине и опасности, что делает биологические методы незаменимыми для оценки качества окружающей среды и интерпретации данных химического анализа. Выделяют два основных биодиагностических подхода: биоиндикацию и биотестирование. Биоиндикация и биотестирование близки по целям исследования. В то же время наблюдается принципиальная разница в методологии и сути проводимых работ. При биотестировании выявляется токсичность пробы для специально подобранных наиболее чувствительных организмов, то есть прогнозируются возможные последствия загрязнения для естественной биоты. Биоиндикация отражает уже произошедшие последствия загрязнения через фактическое состояние живых организмов в районе исследования [19]. Оба подхода представлены десятками методик, в том числе и для оценки состояния почвы. По мнению ряда авторов, ни один из отдельно взятых организмов не может служить универсальным

«датчиком», чувствительным к веществам различной химической природы; следовательно, для гарантированного выявления в среде токсического агента должен использоваться набор биотестов и биоиндикаторов, представляющих организмы различных таксономических групп [4, 15, 30].

На результаты биотестирования и биоиндикации влияют как характер загрязнения, так и выбор тест-организма. Это известный в биотестировании феномен, обусловленный видовыми, в частности, биохимическими особенностями реакциями организмов [19]. Почва является наиболее сложным объектом биодиагностики [28]. Ее геохимические особенности, сложившиеся в ходе естественного почвообразования, отражаются на ответных реакциях организмов. Распространена ситуация несогласованности данных химических и биологических анализов. Причиной этого может быть действие буферных систем почвы. Например, буферность по отношению к тяжелым металлам (ТМ) формируется в результате совокупности физико-химических свойств почвы, понижающих подвижность ионов ТМ, а, следовательно, и их биодоступность [1, 13, 24, 35].

Цель работы: исследование токсичности образцов урбаноземов, загрязненных соединениями некоторых ТМ, различными методами.

Материалы и методы исследований. В качестве объекта биодиагностики и необходимых химических анализов использовали пробы урбаноземов, отобранных в районе воздействия металлургического предприятия ОАО «Электроцинк» (Россия, Республика Северная Осетия-Алания, г. Владикавказ). Данные о химическом загрязнении проб соединениями ТМ, содержании органического вещества и кислотности приведены в табл. 1. Пробы отобраны в августе 2015 г. с глубины 0-5 см в непосредственной близости (проба 5) и по мере удаления на юго-запад от ОАО «Электроцинк» (рис. 1). Отбор проб с территории участков проводили методом «конверта». Площадь участков определялась исходя из удобства пробоотбора и относительного однообразия структуры урбанозема в пределах одного участка. С каждого участка отобрано по 5 точечных проб. Участки пробоотбора находятся в

Фокина Анна Ивановна, кандидат биологических наук, доцент кафедры фундаментальной химии и методики обучения химии. E-mail: annushka-fokina@mail.ru

Олькова Анна Сергеевна, кандидат технических наук, доцент кафедры экологии и природопользования. E-mail: morga-abend@mail.ru

Скугорева Светлана Геннадьевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биомониторинга. E-mail: skugoreva@mail.ru

Лялина Екатерина Игоревна, ассистент кафедры фундаментальной химии и методики обучения химии. E-mail: lyalina.ekaterina@inbox.ru

Домрачева Людмила Ивановна, доктор биологических наук, профессор кафедры биологии растений, селекции и семеноводства, микробиологии. E-mail: ecolab2@mail.ru

Березин Григорий Иванович, кандидат биологических наук, доцент кафедры фундаментальной химии и методики обучения химии. E-mail: grigoory1987@gmail.com

Даровских Лариса Вячеславовна, кандидат педагогических наук, доцент кафедры фундаментальной химии и методики обучения химии. E-mail: usr11345@vyatsu.ru

общей доступности для населения, поэтому требуют не только исследования химического состава, но и биодиагностики с последующим выбором методов ремедиации [5, 10]. Валовое содержание ТМ в образцах урбаноземов определяли методом атомно-абсорбционной

спектроскопии (ААС) [32]. Содержание органического вещества определяли фотометрически по методу Тюрина в модификации ЦИНАО: по количеству образовавшегося иона Cr^{3+} [6]. Кислотность определяли потенциометрически в водной и солевой вытяжках [2].

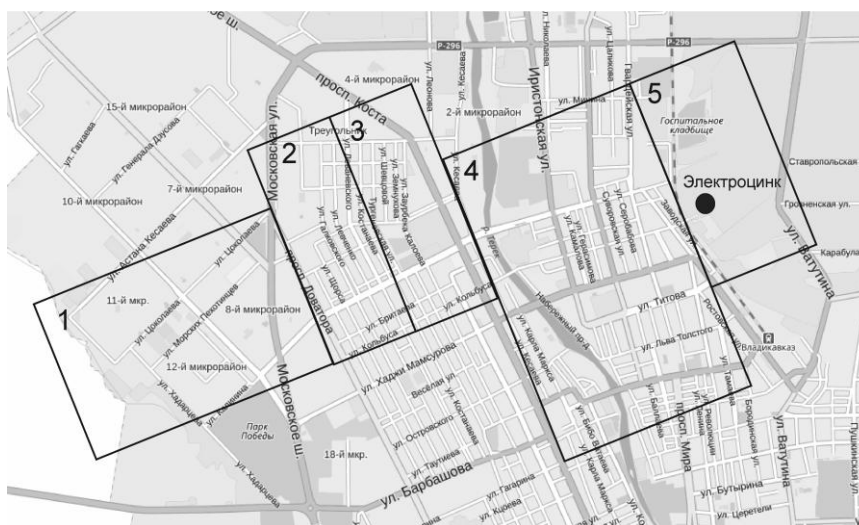


Рис. 1. Участки отбора проб урбаноземов

Для характеристики интегральной степени загрязнения образцов урбаноземов соединениями ТМ рассчитывали суммарный показатель загрязнения (СПЗ), представляющий собой сумму превышений коэффициентов концентраций ТМ, по формуле: $Z_c = x_k k_c - (n-1)$, где k_c – коэффициент концентрации (показатель кратности превышения содержания ТМ в точке отбора над его средним содержанием в аналогичной природной среде на фоновом участке), n – число аномальных элементов [26]. Полученные показатели интегральной оценки загрязнения почв характеризовали степень загрязнения: СПЗ > 128 – чрезвычайное загрязнение, СПЗ = 32–128 – опасное загрязнение; СПЗ = 16–32 – умеренно опасное загрязнение; СПЗ < 16 – допустимое загрязнение.

Биоиндикацию состояния урбаноземов проводили исследованием альго-циано-микробиологических комплексов в чашечных культурах. Использовали метод инициированного микробного сообщества, развивающегося в результате увлажнения исследуемых образцов. Пробы помещали в стерильные 3-х-секторные чашки Петри. Масса образца в одном секторе – 7 г. Почву увлажняли до 70% от полной влагоемкости, выравнивали и раскладывали покровные стекла (стекла обростания). Численность цианобактерий (ЦБ), зеленых и диатомовых водорослей (В) и микромицетов (ММ) проводили методом прямого учета под микроскопом через 40 суток экспозиции в люминистатах с 8-часовым освещением 3200 люкс. При учете дополнительно проводили дифференцировку популяций микромицетов на формы с бесцветным и окрашенным мицелием.

Интегральную токсичность определяли по двум аттестованным экспресс-методам биотестирования: по изменению хемотаксической реакции инфузорий *Paramecium caudatum* с помощью прибора «Биотестер-2» [33] и по изменению биолуминесценции бактериальной тест-системы «Эколюм» с помощью прибора «БИОТОКС-10М» [23]. Методы позволяют дифференцировать группы токсичности: по тест-системе

«Эколюм»: I – проба не токсична, II – проба средне токсична, III – проба сильно токсична; по *Paramecium caudatum* I – допустимая степень токсичности, II – умеренная степень токсичности, III – высокая степень токсичности. В качестве биотестов для оценки отклика микрофототрофных организмов использовали тетразольно-топографический метод, основанный на изменении дегидрогеназной активности цианобактерий рода *Nostoc*: проба оценивается как токсичная, если отклонение от контроля составляет 50% и более [8].

Математически обработанные результаты приводим в виде $M \pm S$, где M – среднее арифметическое, S – стандартное отклонение. Достоверность различий сравниваемых значений доказывали с использованием критерия Стьюдента с учетом уровней значимости (p), вычисленных для двух сравниваемых значений. Наличие корреляционной зависимости устанавливали по коэффициенту Пирсона (r). Для расчетов использовали Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение. Исследуемые образцы урбаноземов характеризуются значениями pH, близкими к нейтральному уровню. Содержание органического вещества колеблется в пределах от 2,2% до 11,5%. Основной особенностью проб является их высокое загрязнение соединениями ТМ. Во всех образцах установлено сверхнормативное содержание свинца: кратность ПДК варьировала от 1,2 для пробы №1 до 92 для пробы №5. Норматив содержания цинка превышен в 12–37,5 раз во всех пробах, кроме пробы №1. В половине исследуемых проб установлено превышение содержания меди по сравнению с допустимыми нормами (табл. 1).

По суммарному показателю загрязнения наиболее загрязненными оказались пробы №4 и №5, что вполне логично, так как участки их пробоотбора расположены ближе всех остальных к предприятию-загрязнителю. СПЗ для них составил 57,6 и 129,1 соответственно, характеризуя степень загрязнения почвы как опасную и чрезвычайно опасную (табл. 2).

Таблица 1. Характеристика проб урбаноземов г. Владикавказа

№ пробы	pH _{H2O}	pH _{KCl}	Содержание органического вещества, %	Валовое содержание ТМ, мг/кг					СПЗ
				Fe _{общее}	Cu	Ni	Zn	Pb	
1	7,02	5,93	2,7±0,5	31000±170	14,5±0,7	28,57±0,24	59±4	35,51±0,10	26,5
2	6,55	5,53	7,3±0,7	31800±1000	44,4±0,6	30,1±0,8	1165±12	325,5±11	1,2
3	7,31	6,46	11,5±1,1	29660±320	62,5±0,7	31,1±1,5	1468±18	405±7	21,1
4	7,60	6,93	11,0±1,1	17080±210	100,5±0,8	28,4±0,9	1985±21	1240±110	57,6
5	6,60	6,06	5,0±0,7	35070±360	383,8±1,8	31,6±0,4	3750±90	2760±230	129,1
ПДК*	–	–	–	25000*	55	85	100	30	–

Примечание: прочерк обозначает, что норматив отсутствует. Жирным шрифтом выделены значения, превышающие норматив, * – действующий норматив [25]; СПЗ – суммарный коэффициент загрязнения почвы

Таблица 2. Степень загрязнения проб урбаноземов г. Владикавказа по показателю суммарного загрязнения

Степень загрязнения	СПЗ	№ проб
допустимая	< 16	2
умеренно опасная	16–32	1, 3
опасная	32–128	4
чрезвычайно опасная	> 128	5

Результаты биоиндикации. Количественный учёт различных водорослей, ЦБ и микромицетов показал, что их природный пул в исследуемых почвах сравнительно невелик (табл. 3-4), так как даже инкубация почвенных образцов более месяца в оптимальном режиме влажности, температуры и освещения не привела к феномену «цветения», что, как правило, наблюдается в луговых, лесных, агрогенных и городских почвах за этот период. Из водорослей развивались только одноклеточные зеленые (в диапазоне от 57 до 125 кл./см²) и диатомовые (с колебаниями численности клеток по почвенным образцам на 1 см² от 92 до 150). Суммарная численность водорослей была в пределах 149–275 кл./см². Минимальное развитие водорослей характерно для почвенного образца № 5, максимальное – для пробы образца урбанозема №2. В остальных вариантах численность этой группы фототрофов была приблизительно одинаковой (табл. 3).

Коэффициент корреляции между суммарным показателем загрязнения и общей численностью фототрофов (0,98) свидетельствует о тесной зависимости между накоплением ТМ урбаноземами и формированием сообщества фототрофных эукариотных микроорганизмов. Известно, что эффекты ТМ на представителей микроэдафона могут варьировать в пределах

прямо противоположных реакций. Считают, что изменения отдельных групп почвенных микроорганизмов являются достоверными в тех случаях, когда концентрации загрязнителей, в частности, ТМ, на два порядка превышают фоновую. В то же время существуют доказательства того, что численность различных групп микроорганизмов проявляет очень высокую вариативность и может происходить как падение, так и возрастание данного показателя [14]. Более четкая реакция характерна для физиолого-биохимических показателей. Так, при повышении концентрации ТМ наблюдается резкое снижение активности ферментов: амилазы, дегидрогеназы, уреазы, инвертазы, каталазы [37], а также численности отдельных групп микроорганизмов [34].

Микроорганизмы, входящие в состав почвенных комплексов, обладают разной степенью устойчивости к ТМ. Сравнение обилия фототрофных микроорганизмов и их вклада в фототрофную структуру популяции показывает, что абсолютное доминирование в фототрофных микробных комплексах урбаноземов г. Владикавказа принадлежит ЦБ (табл. 3, 5). Данный феномен получил название «цианобактериализация» и отмечен для почв многих техногенных и урбанизированных территорий [12]. Максимальное развитие ЦБ отмечено в образцах №4 и №5. Именно в этих образцах участие ЦБ в сложении фототрофных комплексов достигает 97,2% и 99% соответственно. Сравнение полученных цианобактериальных биоиндикационных показателей с показателями интегральной оценки загрязнения почв (табл. 2) позволяет судить о высокой степени загрязнения (опасная и чрезвычайно опасная) образцов урбаноземов №4 и №5.

Таблица 3. Численность фототрофных микроорганизмов в почвах г. Владикавказа, кл./см²

№ пробы	Водоросли		Водоросли (всего)	Циано-бактерии	Фототрофы (всего)
	зеленые	диатомовые			
1	75±25	107±12	182±37	1032±75	1214±112
2	125±25	150±25	275±50	925±75	1200±125
3	107±25	107±25	214±50	1275±125	1489±175
4	107±25	93±12	200±37	6857±600	7057±637
5	57±10	92±12	149±22	14232±2250	14381±2272

Микроорганизмы, входящие в состав почвенных комплексов, обладают разной степенью устойчивости к ТМ. Сравнение обилия фототрофных микроорганизмов и их вклада в фототрофную структуру популяции показывает, что абсолютное доминирование в фототрофных микробных комплексах урбаноземов г. Владикавказа принадлежит ЦБ (табл. 3, 5). Данный феномен получил название «цианобактериализация» и отмечен

для почв многих техногенных и урбанизированных территорий [12]. Максимальное развитие ЦБ отмечено в образцах №4 и №5. При этом именно в этих образцах участие ЦБ в сложении фототрофных комплексов достигает 97,2% и 99% соответственно. Сравнение полученных цианобактериальных биоиндикационных показателей с показателями интегральной оценки загрязнения почв (табл. 2) позволяет судить о высокой

степени загрязнения (опасная и чрезвычайно опасная) образцов урбаноземов №4 и №5.

Негативные последствия влияния ТМ сказываются также и на развитии грибов в почвенных образцах (табл. 4), где их численность определяется всего лишь в несколько сотен спор (в данном случае фрагментов мицелия) на 1 см³ как правило, в почвах с естественным фоном ТМ этот показатель варьирует в пределах от нескольких тысяч до десятков и сотен тысяч на 1 см³ [9]. Диагностическим признаком при использовании микромицетов в биоиндикационных целях является соотношение в структуре популяций грибов с бесцветным и окрашенным мицелием [17]. Если данный показатель превышает 50-60%, то велика вероятность интерпретирования результатов химическим

загрязнением почв, поскольку именно меланинам принадлежит роль у грибов в адаптации к различным неблагоприятным химическим факторам. В частности, существуют доказательства связывания ТМ меланиновыми пигментами грибов [27]. Ингибиторы биосинтеза меланина удаляют пигменты с поверхности клеток грибов. В отсутствие меланина у микромицетов могут наблюдаться: ограничения роста, нарушение морфологии и целостности клеточной стенки при высокой концентрации ТМ [36]. По признаку меланизации во всех образцах урбаноземов преобладают формы грибов с окрашенным мицелием (табл. 5). Максимальный показатель (70,9%) темно-окрашенных грибов зарегистрировали в образце №5.

Таблица 4. Численность микроскопических грибов в почвах. Владикавказ, спор/см²

№ пробы	Микромицеты с мицелием		Всего
	бесцветным	окрашенным	
1	132±25	217±50	349±75
2	125±25	217±50	342±75
3	132±12	250±10	382±22
4	142±12	200±25	342±37
5	82±12	200±25	282±37

Таблица 5. Структура микробных популяций (%)

№ пробы	Водоросли	Циано-бактерии	Бесцветные грибы	Окрашенные грибы
1	15,0	85,0	37,8	62,2
2	22,9	77,1	36,5	63,5
3	14,4	85,6	34,5	65,5
4	2,8	97,2	41,5	58,5
5	1,0	99,0	29,1	70,9

Полученные результаты свидетельствуют об экологическом неблагополучии исследуемых почвенных образцов. Эффект цианофитизации фототрофных комплексов выражен во всех вариантах. Цианобактериальный компонент в этих комплексах составляет от 75 до 99 %. Практически полное доминированием среды ЦБ принадлежит различным видам рода *Phormidium*. Азотфиксирующие формы встретились только в пробе №3. Меланизация микокомплексов также наблюдается во всех вариантах с доминированием окрашенных форм грибов от 55% до 72%.

Биотестирование по аттестованным экспресс-методам. В результате биотестирования проб по изменению хемотоксической реакции *P. caudatum* все образцы кроме пробы №4 были отнесены ко II группе токсичности из трех возможных, – «умеренная степень токсичности» [33] (табл. 6). Острая токсичность пробы №5 наиболее закономерна, поскольку ей соответствует максимальный из установленных СПЗ (121,1). Участок отбора пробы №3, несмотря на некоторое отдаление от ОАО «Электроцинк», характеризуется высоким СПЗ равным 21,1. Токсичность образцов № 1 и 2, вероятно, связана с пониженным относительно установленных для территории значений содержанием органического вещества (табл. 1). Известно, что важная роль в закреплении металлов в почве принадлежит органическому веществу [1]. Так для пробы №1 показатель равен 2,7±0,5% – это минимальное из установленных значений. Проба №4 признана в соответствии с методикой не токсичной [33], однако значения индекса токсичности близки к критическому уровню: критерий отнесения пробы ко II группе – индекс

токсичности 0,40 у.е. и выше. По суммарному показателю загрязнения ТМ участок № 4 признан обладающим опасной степенью загрязнения.

По бактериальной тест-системе «Эколюм» в целом все пробы оказались не токсичны, наблюдалась незначительная стимуляция биолюминесценции относительно контроля (табл. 6). Такая невыраженная реакция тест-системы на высокое загрязнение может быть связана с инверсией ответной реакции, то есть изменением отклика со стимуляции биолюминесценции на угнетение данной тест-функции. К сожалению, аттестованная методика [23] не предполагает интерпретации отрицательных значений индексов токсичности (стимуляции). Однако, ранее в модельных экспериментах с водными и почвенными средами показано, что даже значительные уровни загрязнения могут вызывать стимуляцию «Эколюм» [20]. Безусловно, инверсия ответной реакции является значительным недостатком методики. При этом практически любой токсический процесс, за исключением реакции на супертоксиканты, проходит через стадии стимуляции, критического диапазона и угнетения жизненных показателей [16]. В случае методов биотестирования важно, чтобы инверсии не происходило в диапазоне концентраций загрязняющих веществ, превышающих пределы нормирования.

Анализируя полученные результаты, приходим к заключению, что реакция оцениваемых тест-систем во многих случаях закономерна, но является слабой по сравнению с установленными уровнями загрязнения ТМ. Для раскрытия причины этого явления приводим данные по соотношению валовых форм свинца и

цинка и их водорастворимых форм (табл. 7). Определение водорастворимых форм обусловлено тем, что для токсикологического анализа используется водная почвенная вытяжка, соответственно тест-организмы

воспринимают воздействие только той доли соединений ТМ, которые в силу физико-химических свойств перешла в экстракт.

Таблица 6. Токсичность проб урбаноземов г. Владикавказа

№ пробы	Тест-система «Эколюм»	Тест-объект <i>Paramecium caudatum</i> , Т (y.e.)	Дегидрогеназная активность ЦБ рода <i>Nostoc</i> , % отклонения от контроля
1	(-39,9±3,0)* I группа	0,45±0,09 II группа	-23,5±1,4**
2	(-41±9)* I группа	0,43±0,09 II группа	5,8±0,4
3	(-39,9±3,0)* I группа	0,51±0,01 II группа	-29,3±1,2**
4	(-63±5)* I группа	0,32±0,05 I группа	-81±4**
5	(-37,6±1,1)* I группа	0,40±0,05 II группа	-100,0±0,5**

Примечание: * – стимуляция биолюминесценции; ** – угнетение дегидрогеназной активности. Наименование групп токсичности приведено в «Объектах и методах». Жирным шрифтом обозначены значения, соответствующие заключению «проба токсична»

Таблица 7. Соотношение валовых и водорастворимых форм ТМ в образцах урбаноземов

№ пробы	Zn _{вал.} /Zn _{вод.}	Pb _{вал.} /Pb _{вод.}
1	1735	106
2	1532	1550
3	772	2250
4	992	6200
5	572,5	6900

Примечание: Zn_{вал.} – валовое содержание цинка (мг/кг), Zn_{вод.} – содержание водорастворимых форм цинка; аналогичные обозначения применены для свинца

Соотношения валового содержания металлов и их водорастворимых форм колоссально (табл. 7). В водную вытяжку переходит менее 0,1% от количества валовых форм элемента. Цинк мигрирует в водный раствор в диапазоне 0,05-0,2%, медь 0,1-2,3% от валового содержания. Никель методом ААС в водной вытяжке не обнаружен. Корреляционный анализ связи количества органического вещества в образцах и содержания водорастворимых форм металлов показал: накопление нелабильных форм меди наиболее тесно связано с долей органического вещества ($r < -0,7$). Для других металлов зависимость слабее, что объясняется химическими особенностями каждого элемента и его форм. Например, доказано, что цинк связывается с органическим веществом почвы неспецифически и более подвижен по сравнению со свинцом и медью [29].

Известно, что ионы ТМ имеют большое сродство к органическому веществу почвы [9, 16]. Для Pb, Cu и Ni авторами показаны высокие значения констант устойчивости их органоминеральных соединений с фульво- и гуминовыми кислотами [21]. Причем, чем ниже содержание металла, тем выше энергия их связывания [38]. Большой вклад в изменение биодоступности ТМ может вносить уровень pH почвы: повышение кислотности создает условия перехода нелабильных форм металлов в подвижные [7]. При исследовании урбаноземов г. Владикавказа этот факт наиболее убедительно подтвердился для меди: коэффициент корреляции между степенью извлечения соединений меди водной вытяжкой и обменной кислотностью урбаноземов составил (-0,84). Для других элементов аналогичной

зависимости выявить не удалось, что объясняется тем, что диапазон значений pH был не велик и близок к нейтральной реакции среды (6,6-7,6 ед. pH). Этим, отчасти, объяснимы результаты биотестирования с помощью классических тест-объектов, *P. caudatum* и тест-система «Эколюм» чувствительны к ТМ, однако специфика реализации методики биотестирования (тестируются водные вытяжки), большая буферная емкость почвы, возможный переход в водную вытяжку лигандов, уменьшающих активную концентрацию ионов ТМ и как следствие их биодоступность [31], определяют результат определения токсичности, который в свою очередь не согласуется с данными о высочайшем содержании ТМ в тестируемом образце урбанозема (табл. 1).

Биотестирование тетразолюно-топографическим методом. Исследование токсичности по реакции почвенных ЦБ рода *Nostoc* показало, что вещества, содержащиеся в водных вытяжках из проб, отобранных на близлежащих к ОАО «Электроцинк» участках (№4, №5) значительно угнетают дегидрогеназную активность микроорганизмов (на 81 и 100 % соответственно), данные пробы признаны токсичными (табл. 6). Суточная экспозиция культуры с водными вытяжками из проб № 1-3 не оказала влияния, интерпретируемого как токсичность. Реакция ЦБ коррелирует с валовым содержанием ТМ ($r=0,93$). Однако, как и при использовании аттестованных методов биотестирования, для некоторых участков высокие суммарные показатели загрязнения не вызывают критического ответного угнетения дегидрогеназной активности ЦБ. Например, образцы с участков № 1 и 3 угнетают ЦБ на 23,5±1,4 и 29,3±1,2 % по сравнению с контролем, тогда как соответствующие СПЗ равны 26,5 и 21,1, что характеризуется как умеренно опасная степень загрязнения [26]. Отличие тест-отклика ЦБ от отклика тест-объектов аттестованных методик объяснимо отличием в морфологии и функционировании биохимических систем. Данные тест-организмы оказались более чувствительными за счет иного функционирования в среде, содержащей соединения ТМ. Например, известно, что лиганды органической природы увеличивают биодоступность ионов меди для почвенных ЦБ, что способствует проявлению токсического эффекта [26].

Заключение и выводы. По результатам химического анализа 5 образцов урбаноземов г.Владикавказ видно, что самая высокая степень загрязнения ТМ присуща образцу №5 – чрезвычайное загрязнение. Сравнение используемых в данной работе пяти биодиагностических методов (2-х биоиндикационных и 3-х биотестовых) с результатами химического анализа показало, что наиболее чувствительными методами являются метод биотестирования по определению дегидрогеназной активности ЦБ и методы биоиндикации, основанные на определении степени доминирования ЦБ и степени доминирования меланизированных грибов в структуре альго-циано-микологических комплексов. Исследование токсичности одних и тех же объектов, но с использованием различных подходов (биотестирование и биоиндикация) позволяет по-разному судить о состоянии изучаемого объекта. Это уникальное явление, показывающее своеобразие всех живых существ и одновременно актуальная проблема, решение которой необходимо для правильной оценки экологического риска. Сопоставление результатов химических анализов и биодиагностики исследуемых проб урбаноземов демонстрирует проблему, которая сопутствует изучению почв различной типологии: загрязняющие вещества в компонентах окружающей среды представлены биодоступными и бионедоступными формами, что затрудняет интерпретацию получаемых данных.

Пробы урбаноземов, отобранных на территории г. Владикавказ, загрязнены соединениями меди, свинца, никеля и цинка до опасного и чрезвычайно опасного уровней, однако такое состояние не отразилось в равной мере на использованных тест-объектах. Высокую степень токсичности удалось однозначно выявить по состоянию аборигенной микрофлоры: одноклеточные зеленые водоросли были представлены только зелеными и диатомовыми водорослями, на фоне ярко выраженного эффекта цианобактериализации сообщества (до 99%) наблюдалось отсутствие азотфиксирующих форм, меланизация микокомплексов достигала 70,9%. Оценка тех же проб с помощью аттестованных экспресс-методик биотестирования, привела к выводу об отсутствии существенного уровня токсичности. Биотестирование по угнетению дегидрогеназной активности ЦБ р. *Nostoc* показало наиболее сопоставимые с химическим анализом результаты: снижение показателя более, чем на 50 %, по сравнению с контролем, наблюдалось в вытяжках из наиболее загрязненных образцов.

В целом результаты определения интегральной токсичности показывают, что бесконтактный способ исследования не дал результатов сопоставимых со степенью загрязнения образцов, что обусловлено буферными свойствами почвы, определяющими низкий уровень экстракции соединений ТМ водной вытяжкой из проб. В свою очередь, тестирование одной и той же вытяжки, но различными тест-объектами показывает различную силу отклика, что объясняется морфофункциональными различиями тест-организмов. Методы биотестирования, безусловно, привлекают для исследователей относительной простотой операций анализа, экспрессностью, возможностью дифференциации проб по степени токсичности. Биоиндикационные подходы дают представление о реальной ситуации в экосистеме, включая адаптационные возможности населяющих её организмов. При этом биоиндикация, основанная на глубоком изучении

экологических групп и видов сообщества, требует высокой квалификации исполнителя.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для молодых российских ученых №МК-3964.2015.5.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Анисимов, В.С. Влияние органического вещества на параметры селективной сорбции кобальта и цинка почвами и выделенными из них илистыми фракциями / В.С. Анисимов, И.В. Кочетков, С.В. Круглов, Р.М. Алексахин // Почвоведение. 2011. № 6. С. 675-684.
2. Ариунушкина, Е.В. Руководство по химическому анализу почв. – М.: МГУ, 1970. 488 с.
3. Брагинский, Л.П. Методологические аспекты токсикологического биотестирования на *Daphnia magna* St. и других ветвистоусых ракообразных (критический обзор) // Гидробиологический журнал. 2000. Т. 36, № 5. С. 50-70.
4. Брагинский, Л.П. Токсичность синтетических моющих средств для массовых форм пресноводных беспозвоночных / Л.П. Брагинский, И.Л. Буртная, Э.П. Щербань // Экспериментальные исследования влияния загрязнений на водные организмы. Апатиты: Кольский филиал АН СССР, 1979. С. 24-30.
5. Гиревич, Т.С. Влияние предприятий г.Владикавказ-каза на содержание тяжелых металлов в объектах окружающей среды / Т.С. Гиревич, Е.И. Лялина, Е.А. Горностаева, З.В. Кабалов // Экология родного края: проблемы и пути их решения: Матер. Всерос. молод. науч.-практ. конф. с междунар. уч. – Киров, 2012. С. 195-198.
6. ГОСТ 26213-91. Почвы. Методы определения органического вещества. – М.: Государственный комитет стандартизации и метрологии СССР, 1991. 8 с.
7. Дабахов, М.В. Экоотоксикология и проблемы нормирования / М.В. Дабахов, Е.В. Дабахова, В.И. Титова. – Н. Новгород: изд-во ВВАГС, 2005. 165 с.
8. Домрачева, Л.И. Применение тетразолю-топографического метода определения дегидрогеназной активности цианобактерий в загрязненных средах / Л.И. Домрачева, Л.В. Кондакова, Т. Я. Ашихмина и др. // Теоретическая и прикладная экология. 2008. № 2. С. 23-28.
9. Домрачева, Л. Фузари: биологический контроль, сорбционные возможности / Л. Домрачева, Л. Трефилова, А. Фокина. – Германия: Lap. Lambert, 2013. 182 с.
10. Зангелиди, В.В. Влияние техногенного загрязнения на состояние почв г. Владикавказ: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Владикавказ, 2009. 120 с.
11. Кабата-Пендиас, А. Микроэлементы в почве и растительности / А. Кабата-Пендиас, Х. Пендиас. – М.: Мир, 1989. 439 с.
12. Кондакова, Л.В. Использование водорослей для биоконтроля состояния почвы при ее химическом загрязнении: «Водоросли: таксономия, экология, использование в мониторинге» / Л.В. Кондакова, Л.И. Домрачева. – Екатеринбург: УрО РАН, 2011. С. 294-299.
13. Ладонин, Д.В. Влияние железистых и глинистых минералов на поглощение меди, цинка, свинца и кадмия в конкреционном горизонте подзолистой почвы // Почвоведение. 2003. №10. С. 1197-1206.
14. Лесников, Л.А. Основные задачи, возможности и ограничения биотестирования // Теоретические вопросы биотестирования / Под ред. В.И. Лукьяненко. – Волгоград, 1983. С. 3-12.
15. Левин, С.В. Тяжелые металлы как фактор антропогенного воздействия на почвенную микробиоту / С.В. Левин, В.С. Гузев, И.В. Асеева и др. // Микроорганизмы и охрана почв. – М.: Изд-во МГУ, 1989. С. 5-46.
16. Марфенина, О.Е. Микробиологические аспекты охраны почв. – М.: Изд-во МГУ, 1991. 118 с.
17. Методика определения токсичности проб почв методом биоиндикации по состоянию микромицетов с окрашенным и бесцветным мицелием (патент № 224.03.13.048/2009).

18. Никаноров, А.М. Биомониторинг металлов в пресноводных экосистемах / А.М. Никаноров, А.В. Жулидов. – Л.: Гидрометеиздат, 1991. 312 с.
19. Биодиагностика загрязнений наземных экосистем / под ред. Р. Шуберта. – М.: Мир, 1988. 350 с.
20. Олькова, А.С. Особенности и проблемы биотестирования водных сред по аттестованным методикам // Вода: химия и экология. 20146. №10. С. 87-94.
21. Орлов, Д.С. Химия почв. – М.: МГУ, 1985. 376 с.
22. Орлов, Д.С. Экология и охрана биосферы при химическом загрязнении. – М.: Высшая школа, 2002. 334 с.
23. ПНДФ Т 14.1:2:3:4.11-04. Т.16.1:2:3:3.8-04. Методика определения интегральной токсичности поверхностных, в том числе морских, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных экстрактов почв, отходов, осадков сточных вод по изменению бактериальной биолюминесценции тест-системой «Эколюм». – М.: ООО «Нера-С», 2010. 30 с.
24. Пинский, Д.Л. Тяжелые металлы в окружающей среде / Д.Л. Пинский, В.Н. Орешкин // Экспериментальная экология. – М.: Наука, 1991. С. 201-213.
25. Предельно допустимые концентрации (ПДК) и ориентировочно-допустимые концентрации (ОДК) химических веществ в почве. Гигиенические нормативы. ГН 2.1.7.2041-06, ГН 2.1.7.2042-06 // Бюллетень нормативных актов федеральных органов исполнительной власти, N 10, 06.03.2006, официальное издание: Сборник. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006.
26. Саен, Ю.Е. Геохимия окружающей среды / Ю.Е. Саен, Б.А. Ревич, Е.П. Янин. – М.: Недра, 1990. 335 с.
27. Свистова, И.Д. Стрессовые реакции мицелиальных микроорганизмов на автотрофные загрязнения / И.Д. Свистова, И.И. Корецкая, А.П. Щербаков // 4-е науч. чтения памяти проф. В.В. Стачинского. – Смоленск, 2004. Вып. 4. С. 756-760.
28. Терехова, В.А. Биотестирование почв: подходы и проблемы // Почвоведение. 2011. № 2. С. 190-198.
29. Уфимцева, М.Д. Фитоиндикация экологического состояния урбогеосистем Санкт-Петербурга / М.Д. Уфимцева, Н.В. Терехина. – С-Пб.: Наука, 2005. 339 с.
30. Филенко, О.Ф. Водная токсикология. – М.: Изд-во МГУ, 1988. 154 с.
31. Фокина, А.И. Исследование закономерностей биоаккумуляции меди представителями автотрофных и гетеротрофных организмов / А.И. Фокина, А.С. Олькова, Е.И. Лялина, Л.В. Даровских // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. 2015. №6. С. 50-55.
32. ФР.1.31.2012.13573. Методика выполнения измерений массовых долей токсичных металлов в пробах почв атомно-абсорбционным методом. – М., 2012. 16 с.
33. ФР.1.39.2015.19243. ПНД Ф Т 16.2:2.2-98 (изд. 2015 г.) Методика определения токсичности проб почв, донных отложений и осадков сточных вод экспресс-методом с применением прибора серии «Биотестер». С.-Пб.: ООО «СПЕКТР-М», 2015. 21 с.
34. Babich, H. Heavy metal toxicity to microbe-mediated ecological processes: a review and potential application to regulatory policies // Environ. Res. 1985. Vol. 36. №1. P. 111-137.
35. Benedetti, M.F. Metal ion binding to humic substances: Application of the non-ideal competitive adsorption model / M.F. Benedetti, C.J. Miln, D.G. Kinniburgh et al. // Environmental Science and Technology. 1995. Vol. 29. № 2. P. 446-457.
36. Kejzar, A. Melanin is crucial for growth of the black yeast *Hortaea werneckii* in its natural hypersaline environment / A. Kejzar, S. Gobec, A. Plemenitas, M. Lenassi // Fungal Biol. 2013. V. 117. № 5. P. 368-379.
37. Rogers, J.E. Effect of metals and other inorganic ions on soil microbial activity: soil dehydrogenase assay as a simple toxicity test / J.E. Rogers, S.W. Li // Bull. Environ. Contam. a. Toxicol. 1985. Vol. 34. № 6. P. 858-865.
38. Zunino, H. Metal binding organic macromolecules in soil / H. Zunino, M. Aquilera, M. Caiozzi // Soil Sci., 1979. Vol. 128. P. 257.

RESEARCH THE SAMPLES TOXICITY OF URBANOZEMS, POLLUTED BY HEAVY METALS

© 2016 A.I. Fokina¹, L.I. Domracheva^{2,3}, A.S. Olkova¹, S.G. Skugoreva^{1,2},
E.I. Lyalina¹, G.I. Berezin¹, L.V. Darovskikh¹

¹ Vyatka State University

² Institute of Biology Komi Scientific Center UrB RAS

³ Vyatka State Agricultural Academy

Choice of biodiagnostics methods influences on assessment the quality of environment. At samples of urbanozem, polluted by compounds of heavy metals to dangerous levels, methods of bioindication have established the structural changes in algo-cyano-mycologic complexes connected with increase in share of melanized forms of fungi and cyanobacterial component of these complexes. Testing the water extracts from samples has shown the natural oppression of dehydrogenase activity in cyanobacterias *Nostoc*. Among biotesting express methods the test on physical activity of *Paramecium caudatum* is most informative. The biotest on the *Ekolyum* test system wasn't sensitive. The problem of interpretation the results of biodiagnostics in the conditions of low bioavailability of heavy metals due to buffer properties of soils is discussed.

Key words: urbanozem, heavy metals, biotesting, bioindication, toxicity, soil stability, organic substance

Anna Fokina, Candidate of Biology, Associate Professor at the Department of Fundamental Chemistry and Chemistry Teaching Methods. E-mail: annushka-fokina@mail.ru; Anna Olkova, Candidate of Technical Sciences, Associate Professor at the Department of Ecology and Nature Management. E-mail: morgan-abend@mail.ru; Svetlana Skugoreva, Candidate of Biology, Research Fellow at the Biomonitoring Laboratory. E-mail: skugoreva@mail.ru; Ekaterina Lyalina, Assistant at the Department of Fundamental Chemistry and Chemistry Teaching Methods. E-mail: lyalina.ekaterina@inbox.ru; Lyudmila Domracheva, Doctor of Biology, Professor at the Department of Plants Biology, Selection and Seed Farming, Microbiology. E-mail: ecolab2@mail.ru; Grigoriy Berezin, Candidate of Biology, Associate Professor at the Department of Fundamental Chemistry and Chemistry Teaching Methods. E-mail: grigoory1987@gmail.com; Larisa Dorovskikh, Candidate of Pedagogy, Associate Professor at the Department of Fundamental Chemistry and Chemistry Teaching Methods. E-mail: usr11345@vyatsu.ru