

ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ПОЧВ ПРИДОРОЖНЫХ ТЕРРИТОРИЙ С РАЗНОЙ АВТОМОБИЛЬНОЙ НАГРУЗКОЙ МЕТОДАМИ БИОИНДИКАЦИИ И БИОТЕСТИРОВАНИЯ

Логинов Владислав Иванович

Областное государственное бюджетное профессиональное образовательное
учреждение «Димитровградский технический колледж» детский технопарк
«Кванториум»

г. Димитровград, Ульяновская область, loginov99vlad@gmail.com

Аннотация: Статья посвящена проблеме загрязнения почв придорожных
территорий.

Ключевые слова: почва, дорога, биомониторинг, загрязнение.

V. Loginov (Russia). ECOLOGICAL MONITORING OF SOILS OF ROADSIDE TERRITORIES WITH DIFFERENT AUTOMOBILE LOADS BY METHODS OF BIOINDICATION AND BIOTESTING

Annotation: The article is devoted to the problem of soil pollution of roadside
territories.

Keywords: soil, road, biomonitoring, pollution.

Актуальность выбранной темы обусловлена тем, что в настоящее время
становится ясно - первым виновником загрязнения окружающей среды является
транспорт. Влияние автодороги как источника антропогенного вмешательства в
природно-территориальный комплекс проявляется в длительном воздействии
невысоких концентраций элементов, образующихся при сгорании топлива или
эксплуатации автомобиля, которые оседают по краям дорожного полотна,

аккумулируясь на поверхности и мигрируя по почвенному профилю [5]. Поэтому экологический мониторинг почв придорожных территорий является важным элементом - основой для обеспечения контроля и внедрения мер по уменьшению негативного воздействия транспорта на окружающую среду.

Цели исследования:

1. Выявить степень загрязнения почв придорожных территорий в зависимости от автотранспортной нагрузки на дорогу методами биоиндикации и биотестирования.

2. Провести биомониторинг почв с помощью организмов, принадлежащих разным таксономическим группам (царство животные, царство растения и царство бактерии) и выявить их устойчивость к разной степени загрязнения почв придорожных территорий.

Задачи исследования:

1. Изучить методы биомониторинга почв.
2. Провести биотестирование почв с помощью кресс-салата.
3. Провести биотестирование почв с помощью дафний.
4. Провести биоиндикацию почв с помощью культуры *Azotobacter*.
5. Сделать выводы.

Биоиндикация и биотестирование

Биомониторинг является составной частью экологического мониторинга - слежение за состоянием окружающей среды по биологическим показателям. К основным видам биомониторинга относятся биотестирование и биоиндикация.

Биоиндикация - это оценка состояния среды с помощью живых объектов. Биоиндикация может осуществляться на всех уровнях организации живого: биологических молекул, клеток, тканей и органов, организмов, популяций (пространственная группировка особей одного вида), сообществ, экосистем и биосферы в целом[8].

Для общей оценки токсичности какого-либо объекта удобно использовать организмы-биотестеры. Биотестирование (от англ. bioassay) – это процедура установления токсичности среды с помощью тест-объектов [12]. Критерием токсичности является достоверное количественное значение тест параметра (тест-реакции), на основании которого делается вывод о токсичности образца. Среди тест-параметров наиболее часто используют поведенческие реакции, выживаемость, плодовитость, изменение ферментативной и метаболической активности организмов, а также их морфологических характеристик [6].

Кресс-салат – однолетнее овощное растение, обладающее повышенной чувствительностью к загрязнению почвы тяжелыми металлами, а также к загрязнению воздуха газообразными выбросами автотранспорта. Этот биоиндикатор отличается быстрым прорастанием семян и почти стопроцентной всхожестью, которая заметно уменьшается в присутствии загрязнителей [10].

Дафния — это стандартный тест-объект, который применяется в основном в установлении токсических веществ в воде. Методы биотестирования с использованием дафний, в основном, основаны на регистрации их смертности от действия на них определенных токсических веществ [2].

Почвенные микроорганизмы мы являются наиболее чувствительными индикаторами изменения почвенно-экологических условий [15]. Многими авторами [11, 13] также показано, что азотобактер может быть использован как индикатор экологического состояния почвенного покрова, поскольку развивается только в среде с нейтральным и слабощелочным значением pH, чувствителен к содержанию кальция и фосфора и содержанию органического вещества.

Отбор почвенных образцов

Объектом исследований выбраны образцы почв г. Димитровграда, отобранные в 3 точках территории города вдоль дорог с разной интенсивностью движения автотранспорта: проба №1 - вдоль переулка между улицами Свирская

и Западная (низкая интенсивность движения автомобилей в дневное время (96 автомобилей в час)); проба №2 -вдоль ул. Октябрьской (средняя интенсивность движения автомобилей в дневное время (1000 автомобилей в час)), проба №3 - вдоль пр. Автостроителей (высокая интенсивность движения автотранспорта в дневное время (1800 автомобилей в час)). Для контроля был выбран участок за городом в Мелекесском районе (25 км за городской чертой и в 1 км от трассы). Места отбора проб на территории города Димитровграда обозначены на карте (рис.1).

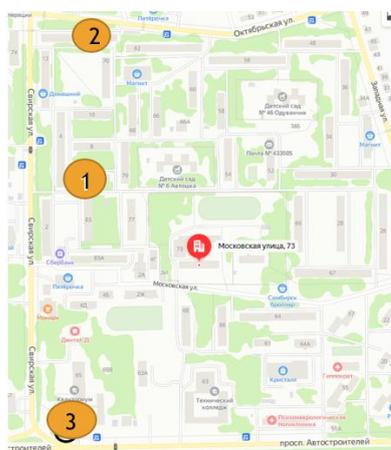


Рисунок 1. Расположение участков отбора почвенных проб на карте г. Димитровграда (1-проба №1 -перулок между улицами Свирская и Западная; 2- проба №2 –ул. Октябрьская; 3- проба №3- пр. Автостроителей).

Согласно общепринятой методике отбора проб для проведения почвенного мониторинга [4] образцы почв были взяты на глубине 0-25 см методом «конверта» согласно схеме (рис. 2). Из точек 1–5 отобраны в один пластиковый пакет по 200 г почвы с помощью лопаты. После отбора все пробы перемешаны. Отбор проб был произведен в 3-х выбранных точках придорожных территорий (рис.1), а также в контрольной зоне.

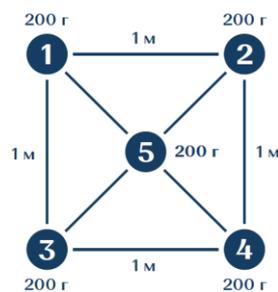


Рисунок 2. Схема сбора почвы методом «конверта».

Далее в лабораторных условиях почва была высыпана на бумагу и из нее вынуты все корни и камни. После этого пробы просушены в течение 2-3 дней. Далее высушенная почва была измельчена и перемешана.

Биотестирование почв с помощью кресс-салата

В чашки Петри помещены подготовленные пробы почв без корней и растительных остатков, увлажнены и растерты до состояния густой пасты. Для исследования приобретены семена кресс-салата. Семена предварительно замочены в течение суток. В чашки Петри посеяны по 30 шт. семян испытуемого кресс-салата. Чашки пронумерованы в соответствии с номером пробы почвы. Семена прорастали в течение 5 дней при постоянной температуре и влажности, почва увлажнялась равным количеством воды (5-10 мл). При учете результатов были измерены длина проростков, длина корней, число проросших семян.

Биотестирование почв с помощью дафний

Для биотестирования почвы с помощью дафний необходимо приготовить водную вытяжку почвенных образцов. Для приготовления водной вытяжки 20 г почвы помещались в коническую колбу. Далее в колбу были добавлены 100 мл дистиллированной воды (соотношение почвы и воды 1:5), лишенной CO₂ (30 мин. кипячением). Содержимое колбы размешивалось 5 мин. Затем водная вытяжка отстаивалась 5 мин и фильтровалась через беззольный бумажный фильтр в небольшой химический стакан [2]. Согласно этой методике были получены водные вытяжки из всех проб почв. Водные вытяжки перелиты в небольшие сосуды. В каждый сосуд с помощью пипетки помещены по 5 особей

дафний. Дафний во время эксперимента не кормили. Учет выживших дафний проводился через 1, 6, 24, 48, 72 и 96 часов. В конце биотестирования визуально подсчитано количество живых дафний. Живыми считают дафний, которые свободно передвигаются в толще воды или всплывают со дна сосуда не позже, чем через 15 сек после его легкого встряхивания. Остальных дафний считают погибшими [7].

Микробная биоиндикация почв с помощью культуры *Azotobacter*

Обилие азотфиксирующих бактерий рода *Azotobacter* учитывали методом комочков обрастания на агаризованной безазотной среде Эшби [4]. Для приготовления среды Эшби потребовались на 1л дистиллированной воды: агар-агар – 20 г, сахароза – 20,0 г, K_2HPO_4 — 0,2г, $MgSO_4$ — 0,2г, NaCl — 0,2г, K_2SO_4 — 0,2г, $CaCO_3$ — 5,0г. Готовая среда Эшби разлита по чашкам Петри. На твердой поверхности среды разложены по трафарету 36 комочков увлажненной дистиллированной водой почвы, чашки помещены в теплое влажное место. Для оценки результатов на 5 день исследования подсчитаны комочки почвы, обросшие микроорганизмами, а затем определен процент, который они составляют от общего числа комочков почвы (относительная оценка плотности заселения микроорганизмов учитываемых групп в почве).

Результаты собственных исследований

Биотестирование почв с помощью кресс-салата

Биотестирование исследуемых образцов почв с помощью кресс-салата показало, что почва в пробе №3 наиболее загрязнена выбросами автотранспорта, о чем свидетельствует уменьшение процента всхожести и скорости прорастания семян. Почва в пробе №1 оказалась наименее загрязненной, т.к. процент всхожести и скорость прорастания семян кресс-салата имеют наибольшие показатели, но они ниже чем в контрольной пробе (рис.3). Полученные данные свидетельствуют об увеличении степени загрязнения почвы придорожной территории при увеличении транспортной нагрузки на дорогу.

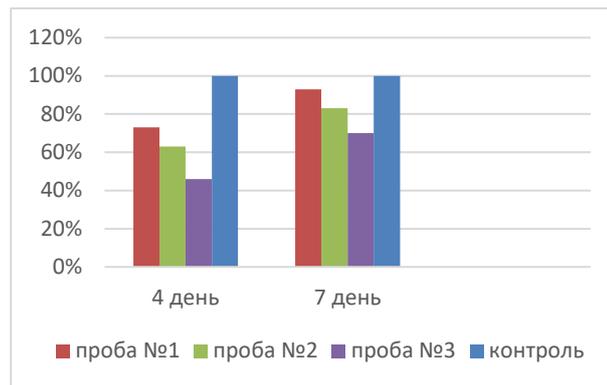


Рисунок 3. Процент прорастания семян на 4-е и 7-е сутки.

При проведении биотестирования средняя длина надземной части проростков в пробах №1 и №2 оказались одинаковы (5,2см. и 5,1 см. соответственно), но уступают длине проростков контрольной пробы (таблица 1). При этом длина проростков в пробе №3 оказалась гораздо меньше чем в остальных пробах, что свидетельствует о высокой степени загрязнения почвы.

Таблица 1. Средняя длина проростков кресс-салата.

№ пробы	Исследуемая почва	Степень автомобильной нагрузки	Средняя длина надземной части проростка, см.	Средняя длина корня, см.
1	переулок	низкая	5,2	3
2	ул. Октябрьская	средняя	5,1	6,1
3	пр. Автостроителей	высокая	3,6	4,9
Контроль	участок за городом	отсутствует	6,2	1,6

В результате исследования было выявлено закономерное увеличение отношения длины корня к длине надземной части проростка при возрастании автотранспортной нагрузки на дорогу (рис. 4).

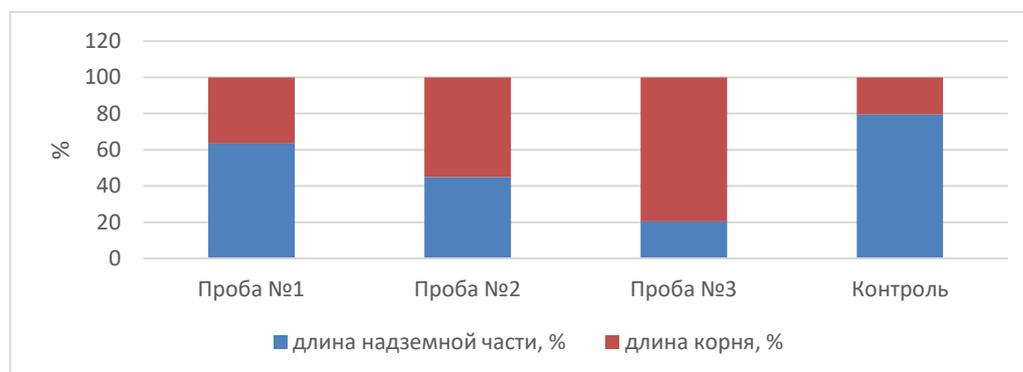


Рисунок 4. Процентное отношение длины корня к длине надземной части проростков.

По литературным данным на богатых почвах растения имеют менее развитую корневую систему, поскольку и с небольшого объема почвы можно извлечь необходимые элементы питания и воду. На бедных почвах отношение массы корневой системы к надземной части возрастает [5]. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод о том, что почва придорожных территорий не только загрязнена выхлопами автотранспорта, но и содержит меньше питательных веществ необходимых для роста растений. При этом, чем больше транспортная нагрузка на дорогу, тем менее плодородна почва (приложение №1).

Биотестирование почв с помощью дафний.

Биотестирование почв с помощью дафний показало, что все водные вытяжки исследуемых образцов почв придорожных территорий оказались токсичны. Наибольшей токсичностью обладает проба №3, о чем свидетельствует гибель всех особей дафний в течении 72 часов (таблица 3). При этом можно выделить закономерное увеличение смертности дафний, а значит и токсичности вытяжек, при увеличении транспортной нагрузки на дорогу (рис.5) (приложение №2).

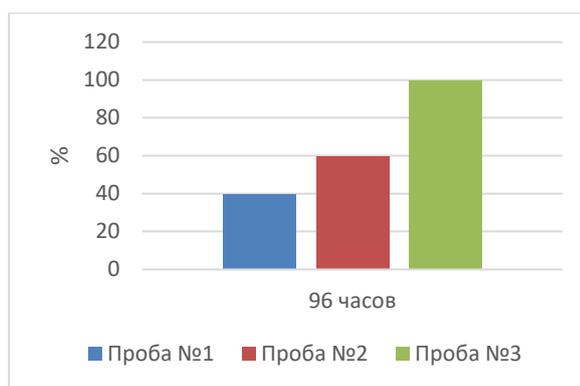


Рисунок 5. Смертность дафний в течении 96 часов.

Микробная биоиндикация почв с помощью культуры *Azotobacter*

Результаты посевов показали зависимость количества колоний культуры *Azotobacter* при увеличении транспортной нагрузки на дорогу. На 5 день исследования подсчитаны комочки почвы, обросшие микроорганизмами. На основе полученных данных выяснилось, что активность азотобактера уменьшается при увеличении транспортной нагрузки на дорогу (таблица 2). Согласно литературе [1] активность *Azotobacter* уменьшается при увеличении кислотности почвы, которая повышается при загрязнении выхлопными газами автотранспорта.

Таблица 2. Активность культуры *Azotobacter* в почвах с разной степенью автомобильной нагрузки.

№ пробы	Исследуемая почва	Степень автомобильной нагрузки	Количество обросших комочков, шт	Доля обросших комочков от общего числа комочков, %
1	переулок	низкая	29	80

2	ул. Октябрьская	средняя	18	50
3	пр. Автостроителей	высокая	9	25
Контроль	участок за городом	отсутствует	36	100

Наибольшей активностью обладают бактерии рода *Azotobacter* в пробе №1, но уступают контрольной. Наименьшая активность наблюдается в пробе №3 вдоль дороги с самой высокой автомобильной нагрузкой на дорогу (приложение №3).

Заключение

1. Опираясь на результаты исследования можно сделать вывод, что наименее загрязненная почва в пробе №1 - переулок между улицами Свирская и Западная; средняя степень загрязнения - проба №2 –ул. Октябрьская; сильная степень загрязнения- проба №3- пр. Автостроителей. Все используемые методы биомониторинга подтвердили прямую зависимость степени загрязнения почвы выхлопными газами от степени автомобильной нагрузки на дорогу.

2. В результате проведенного биомониторинга почв с помощью организмов, принадлежащих разным таксономическим группам (царство животные (дафнии), царство растения (кресс-салат) и царство бактерии (азотобактер)), было выявлено угнетающее влияние на жизнедеятельность всех организмов, процессы роста и развития. Увеличение количества машин, развитие дорожной сети, наносит огромный ущерб окружающей среде и оказывает опасное воздействие на растения, животных и людей.

Библиография

1. Алексеева А.Е. Физиолого-биохимическая активность и биоразнообразии штаммов *Azotobacter chroococcum*, выделенных из почв Нижегородской области: автореф. дис ... канд. биол. наук. Нижний Новгород, 2005. 24 с.
2. Богачева А.В., Васильченко Ю.В., Ефимова Н.Д. Применение дафнии в экспериментальной биологии и медицине // Материалы IX Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум» URL.
3. Брагинский Л.П. Методологические аспекты токсикологического биотестирования на *Daphnia magna* Str. и других ветвистоусых ракообразных (критический обзор) // Гидробиол. журн. - 2000. - Т. 36, N 5. - С. 50-70.
4. ГОСТ 17.4.3.01-83. Общие требования к отбору проб. (СГ СЭВ 3347-82). - М., 1983. - 44 с.
5. Дьякова А.Б. Экологическая безопасность транспортных потоков -. М., 1969.
6. Лихачев, С.В. Биотестирование в экологическом мониторинге: учебно методическое пособие / С.В. Лихачев, Е.В. Пименова, С.Н. Жакова; Министерство сельского хозяйства Российской Федерации, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный аграрно-технологический университет имени академика Д.Н. Прянишникова». – Пермь: ИПЦ «Прокрость», 2020 –89 с.; 21 см – Библиогр.: с.88–89.
7. Мелехов, И.С. Лесоведение: учеб. / И.С. Мелехов. - М.: МГУЛ. 1999. - 398 с.
8. Мелехов О.П., Егорова Е.И. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование //Издательский центр «Академия», 2007. - 288 с.

9. Мынбаева Б.Н., Курманбаев А.А., Воронова Н.В. Микробная биоиндикация почв г. Алматы с помощью культуры AZOTOBACTER // *Фундаментальные исследования*. – 2011. – № 6. – С. 206-209;
10. Нечаева Г.А., Федорос Е.И. Экология в экспериментах. Изд-во «Вентана-Граф» 2007, стр.107
11. Строганова, М. Н. Роль почв в городе / М. Н. Строганова, А. Д. Мягкова, Т. В. Прокофьева // *Почвоведение*. – 1997. - Т. 8. - № 1. – С. 16-24.
12. Федорова А. И., Никольская А. Н. Практикум по экологии и охране окружающей среды / А. И. Федорова, А. Н. Никольская. — М.: ВЛАДОС, 2001. — 288 с.
13. Языков, Е.Г. Геоэкологический мониторинг: учебное пособие для вузов /Е.Г. Языков, А.Ю. Шатилов. – Томск, 2003. – 336 с.
14. Gandora V., Gupta R. D., Bhardwaj K. K. R. Abundance of Azotobacter in great soil groups of North-West Himalayas // *Journal of the Indian Society of Soil Science*. — 1998. — Т. 46. — № 3. — С. 379—383. — ISSN 0019-638X. ISSN 0019-638X CODEN JINSA4
15. Martyniuk S., Martyniuk M. Occurrence of Azotobacter Spp. in Some Polish Soils // *Polish Journal of Environmental Studies*. — 2003. — Т. 12. — № 3. — С. 371—374.
16. Tejera N., Lluch C., Martínez-Toledo M. V., González-López J. Isolation and characterization of Azotobacter and Azospirillum strains from the sugarcane rhizosphere // *Plant and Soil*. — 2005. — Т. 270. — № 1—2. — С. 223—232. — ISSN 0032-079X. ISSN 0032-079X
17. Kumar R., Bhatia R., Kukreja K., Behl R. K., Dudeja S. S., Narula N. Establishment of Azotobacter on plant roots: chemotactic response, development and analysis of root exudates of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Journal of Basic Microbiology*. — 2007. — Т. 47. — № 5. — С. 436—439

Приложение №1

	Проростки кресс-салата, 4 день. Проба №1
	Проростки кресс-салата, 4 день. Проба №2
	Проростки кресс-салата, 4 день. Проба №3
	Проростки кресс-салата, 4 день. Контроль

Приложение №2.

Численность дафний, 96 часов.

			
Контроль	Проба №1	Проба №2	Проба №3

Приложение №3.

Рост азотобактера на почвенных комочках, 5 день.

	Проба №1
	Проба №2
	Проба №3