

ДЕГРАДАЦИЯ,
ВОССТАНОВЛЕНИЕ И ОХРАНА ПОЧВ

УДК 631.4:577.4:502.7

**ФИТОТОКСИЧНОСТЬ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ
В ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТЫХ ПОЧВАХ
РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ОКУЛЬТУРЕННОСТИ**

© 2021 г. В. А. Терехова^{a, b, *}, Е. В. Прудникова^a, А. П. Кирюшина^b,
М. М. Карпухин^a, И. О. Плеханова^a, О. С. Якименко^a

^aМГУ им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1, Москва, 119991 Россия

^bИнститут проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Ленинский пр-т, 33, Москва, 119071 Россия

*e-mail: vtterekhova@gmail.com

Поступила в редакцию 10.09.2020 г.

После доработки 17.10.2020 г.

Принята к публикации 27.10.2020 г.

Сравнительные исследования воздействия тяжелых металлов (ТМ: Cu 660 + Zn 1100 + Pb 650 мг/кг) на агродерново-подзолистые почвы (Albic Retisols (Loamic, Agric, Cutanic, Ochric)) двух полей (Чашниково, Московская область) разной степени окультуренности с разным содержанием органического углерода ($C_{\text{орг}}$ 3.86 и 1.30%) проведены по показателям острой и хронической фитотоксичности. Установлено, что при одинаковом уровне полиметаллического загрязнения отклики тест-растений на присутствие высоких концентраций ТМ и потенциальных ремедиантов (лигногумата и биоугля) в почвах одного типа с разным содержанием $C_{\text{орг}}$ заметно различаются по ростовым параметрам и накоплению металлов в фитомассе. Загрязнение ТМ слабоокультуренной почвы привело к полной гибели растений в вегетационном опыте, тогда как в сильноокультуренной растения продолжительно развивались до стадии цветения с незначительными отклонениями от контроля. Приведены экспериментальные данные по валовому составу и содержанию водорастворимых форм токсикантов и биофильных элементов в исследованных почвах. Методом главных компонент выявлены взаимосвязи между химическим составом почв и результатами фитотестов. Обсуждается необходимость коррекции нормативов ориентировочно допустимого содержания ТМ для дерново-подзолистых почв с включением градаций содержания $C_{\text{орг}}$ помимо рН и гранулометрического состава.

Ключевые слова: экологическая оценка почв, биотестирование, органический углерод, полиметаллическое загрязнение, нормирование, лигногумат, биоуголь, биодоступность, медь, цинк, свинец

DOI: 10.31857/S0032180X21060137

ВВЕДЕНИЕ

Продуктивность и качество фитомассы – важнейшие характеристики плодородия почв. На этом основании оценка фитотоксичности является неотъемлемой характеристикой экологического состояния почв агроэкосистем [12, 21, 32, 38].

Токсические вещества влияют на свойства почв, вследствие чего замедляется рост растений, меняются их морфологические свойства, у вегетирующих растений наблюдается скручивание, асимметрия, сбрасывание листьев, снижение активности ферментов, в итоге снижается продуктивность. Один из основных механизмов действия токсикантов сводится к увеличению содержания активных форм кислорода в клетках растений; их высокие концентрации способны полностью подавлять работу антиоксидантной системы, приводить к окислительному стрессу и гибели клеток и растения в целом [5, 25, 30, 31, 34, 36].

Фитотестирование в экспрессном лабораторном варианте (проращивание семян в контакте с водным экстрактом почв или почвой во влажной камере), осуществляемое в краткосрочный период (4–5 суток), дает представление об острой фитотоксичности¹ [9, 21], в более продолжительном вегетационном эксперименте (3–6 недель) – о хронической фитотоксичности (ГОСТ Р ИСО 22030-2009. Качество почвы. Биологические методы. Хроническая фитотоксичность в отношении высших растений. М.: Стандартинформ, 2010). Эти два способа редко применяются одновременно, однако важно представлять, насколько их результаты коррелируют, и какие тест-параметры в краткосрочном опыте наиболее адекватно могут характеризовать состояние растений на поздних

¹ ISO 18763: 2016 Качество почвы. Определение токсического воздействия загрязнителей на всхожесть и ранний рост высших растений.

стадиях вегетации с тем, чтобы прогнозировать ситуацию на весь вегетационный период.

Загрязнение почв тяжелыми металлами (ТМ) и металлоидами длительное время остается важной экологической проблемой [2, 5, 7, 10, 13, 35, 36, 38]. Из этой нечетко определенной группы элементов наиболее часто встречаются свинец (Pb), хром (Cr), мышьяк (As), цинк (Zn), кадмий (Cd), медь (Cu), ртуть (Hg) и никель (Ni) [24].

На накопление и изменение подвижности тяжелых металлов в почвах влияют органические и неорганические удобрения, мелиоранты, поливные воды [6, 14, 18]. В свою очередь поглощение металлов почвами влияет на pH [1, 2, 5, 35], биологическую активность и структуру микробных сообществ почв [15, 23, 28–30, 35], на изменение компонентного состава гумуса и даже его количества [20].

Для снижения токсического действия на почвах разных видов поллютантов широко применяются углеродсодержащие продукты, такие как гуминовые препараты различного генезиса [14, 16, 22, 27, 28, 37], и продукты пиролизной обработки древесных и других органических отходов – биоугли [14, 18, 19, 28].

Проблеме химического загрязнения почв как фактору экологического риска посвящено немало исследований, методических рекомендаций и руководств, отражающих различные методологические подходы к оценке экологического состояния почв². Особое внимание при мониторинге почв агроэкосистем уделяется распространению тяжелых металлов [1, 6, 24, 38]. Широко внедренные в практику концентрационные показатели химических веществ не могут дать полного представления о состоянии биотопов [3, 8, 32]. Недостаточность ранжирования экологического качества природных сред на основании содержания химических компонентов очевидна из-за различий в реакциях живых систем на загрязнение [6, 15, 16], которые зависят от многих почвенных параметров: кислотности почв, гранулометрического состава и наличия питательных элементов. Тем не менее, в системе экологического нормирования определению допустимого содержания поллютантов (ПДК, ОДК) придается большое значение из-за удобства сравнений и определенного рода универсальности (ГН 2.1.7.2041-06, ГН 2.1.7.2511-09) [2, 3, 6, 10, 11].

Актуальным представляется выявление информативности биотических индексов при оценке допустимых уровней воздействия ТМ на живые системы при разном содержании органического углерода в почве.

В связи с этим работа направлена на выявление особенностей развития высших растений в образцах агродерново-подзолистых почв разной степени окультуренности при одинаковом уровне полиметаллического загрязнения. Отклики растений на присутствие высоких концентраций ТМ и потенциальных ремедиантов (биоугля и лигногумата) в почвах с разным содержанием органического углерода оценивали по ростовым параметрам и накоплению металлов в фитомассе.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Почва. Для исследования отобрали образцы пахотной дерново-подзолистой почвы – Albic Retisols (Loamic, Aric, Cutanic, Ochric)³ с двух удаленных друг от друга полей Московской области (Солнечногорский район, территория УОПЭЦ “Чашниково”). Почва первого поля – S1 (56°02'01 N, 37°10'04 E), pH_{KCl} – 6.39 ± 0.05, с высоким содержанием органического углерода (C_{орг} 3.86%) далее обозначена как сильноокультуренная. Почва второго поля – S2 (56°01'41 N, 37°11'04 E) слабоокультуренная, pH_{KCl} – 5.84 ± 0.05, с низким содержанием органического углерода (C_{орг} 1.30%). Образцы почвы отбирали с пробных площадок каждого поля размером 40 м² из верхнего слоя 0–20 см методом “конверта” в начале мая 2019 г. Почву каждого поля усредняли смешиванием и доставляли в лабораторию (масса около 25 кг, исходная влажность 35–40%). В лаборатории почву просушивали на воздухе, освобождали от грубых растительных фрагментов, просеивали через сито (ячейки диаметром 5 мм), увлажняли (55–60% полевой влагоемкости), оставляли на предынкубацию (5 суток, 22°C).

Тяжелые металлы в образцы почвы вносили в виде водных растворов (10 мл/кг) меди (CuSO₄), цинка (ZnSO₄) и свинца (PbCl₂) для достижения концентрации Cu, Zn и Pb, равной 660, 1100 и 650 мг/кг почвы соответственно, что составило пять ориентировочно допустимых концентраций (ОДК) каждого металла (ГН 2.1.7.2511-09).

Углеродсодержащие препараты (лигногумат, биоуголь) в экспериментальные образцы незагрязненных и загрязненных металлами почв добавляли по отдельности и вместе.

Биоуголь (продукт пиролиза древесины березы, фракция 2–8 мм, производитель ООО “Метакон”, Россия) добавляли в количестве 5% от массы почвенного образца. Биоуголь содержал C (88.2%), N, H и S (0.44, 0.82 и 0.19% соответственно), золу (2.8%), pH_{CaCl2} 8.9. Содержание катио-

² Р 2.1.10.1920-04 “Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду” (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 5 марта 2004 г.).

³ WRB (IUSS Working Group WRB. 2014. World reference base for soil resources 2014. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources Reports No. 106. FAO. Rome.)

нов Cu, Zn и Pb в биоугле составляло не более 0.02% его массы.

Лигногумат калия получен искусственной гумификацией лигносульфоната (производитель НПО "РЭТ", Россия), его зольность составляла 40%, содержание C, N, H, S и K — 37.3, 0.5, 3.72, 4.84 и 9.0% соответственно; pH_{CaCl_2} 9.0 (1%-ный раствор), содержание гуминовых кислот — 58% органического вещества. Лигногумат вносили в почвы в виде 10%-ного водного раствора из расчета 0.25% от массы почвы.

Дизайн эксперимента. Образцы сильно- (S1) и слабоокультуренной почвы (S2) разделяли на две равные части, в одну из которых вносили смесь водных растворов солей ТМ в количестве 10 мг/кг и тщательно перемешивали. Вторую часть почвы увлажняли равным объемом дистиллированной воды. Полученные образцы почв, влажность которых составляла около 60% от полевой влагоемкости, оставляли на 7 суток при комнатной температуре для равномерного распределения воды и солей ТМ. Затем почвенные образцы S1 и S2 с добавками солей металлов или воды делили на четыре части (варианты), одна из которых служила контролем для углеродсодержащих добавок (биоуголь и лигногумат — отдельно и вместе) и ТМ. Подготовленные таким образом почвенные образцы (для каждой почвы 8 вариантов) инкубировали еще 7 суток при комнатной температуре.

Почву каждого варианта распределяли по трем вегетационным сосудам (повторности) объемом 3 л по 2.5 кг в каждый, из которых отобрали образцы для химических анализов и лабораторного фитотестирования. Затем сосуды с почвой засевали семенами горчицы белой *Sinapis alba* L. (10 семян на сосуд) и помещали для выращивания растений в теплицу (средняя температура воздуха 16.8°C, средняя влажность — 61%) на 30 суток. Влажность почвы в сосудах контролировали периодическим взвешиванием с последующим добавлением дистиллированной воды. По окончании вегетации растения извлекали из сосудов для определения морфометрических характеристик и биомассы, а почвенные образцы отбирали для химических анализов и оценки хронической фитотоксичности.

В экспериментах анализировали следующие образцы обеих почв (S1 и S2): контроль (К), лигногумат (Л), биоуголь (Б), лигногумат и биоуголь (ЛБ); ТМ — контроль (ТМ), ТМ и лигногумат (ТМЛ); ТМ и биоуголь (ТМБ); ТМ, лигногумат и биоуголь (ТМЛБ).

Фитотестирование проводили с применением сидератной культуры — горчицы белой (*Sinapis alba* L.) Острую фитотоксичность оценивали в лабораторном эксперименте и хроническую — в условиях теплицы.

Оценку острой фитотоксичности почвенных образцов проводили по развитию проростков се-

мян горчицы в пластиковых планшетах согласно стандартной методике измерения биологической активности гуминовых веществ методом фитотестирования "Фитоскан", (ФР.1.39.2012.11560) [9] аппликатным и элюатным способами.

При аппликатном способе увлажненную (60% от полной влагоемкости) почву массой 60 г помещали в нижнюю камеру пластикового двухкамерного планшета, укрывали одним слоем фильтровальной бумаги, на которую раскладывали семена растений (в каждый планшет — по 10 семян, на каждый вариант по 3 планшета).

При элюатном способе оценивали эффект водной вытяжки (элюата) из образцов почв, приготовленной стандартным способом при соотношении почва : вода — 1 : 4. В этом варианте в нижнюю камеру пластикового планшета помещали три слоя фильтровальной бумаги, пропитанные водной вытяжкой из почвенных образцов (8 мл в каждый планшет). Планшеты выдерживали при температуре $24 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 96 ч. По окончании экспозиции регистрировали всхожесть и длину корней проростков семян горчицы. Контролем служили проростки семян в планшетах на увлажненной дистиллированной водой фильтровальной бумаге. Определение острой фитотоксичности проводили перед началом и по окончании 30-ти суточной экспозиции сосудов с растениями. Фиксировали изменение всхожести семян и длину корней проростков горчицы в опыте относительно контроля.

Оценку хронической фитотоксичности почв проводили в вегетационных сосудах согласно ГОСТ Р ИСО 22030-2009. Длительность экспозиции составила 30 суток при температуре от 22 до 28°C. Оценивали всхожесть, биомассу растений (с корнями), ростовые и морфометрические характеристики растений, а также накопление металлов путем расчета коэффициента накопления как отношения содержания элемента в сухой биомассе всего растения к его валовому содержанию в почве.

Химический анализ. Образцы почв для химического анализа высушивали при комнатной температуре, растирали в ступке. Во всех вариантах опыта определяли pH водной суспензии, содержание общего углерода (ISO 14235:1998), общего азота ($N_{\text{общ}}$, CNHS анализатор Elementar EL III), аммонийного азота (ГОСТ 26489-85, фотометр Nach DR 2800), нитратного азота (ПНД Ф 16.1.8-98, хроматограф Dionex ICS 2000), подвижных соединений фосфора и калия (метод Кирсанова, спектрометр Agilent 5110 ICP-OES).

Концентрацию водорастворимой формы меди, цинка и свинца определяли в водной вытяжке (1 : 10); валовое содержание после разложения образцов почв царской водкой (смесь азотной и соляной кислот в соотношении 1 : 3) и обработки в

микроволновой печи. Определение содержания ТМ в растениях проводили в высушенных измельченных пробах после обработки смесью азотной кислоты и перекиси водорода (7 мл/1 мл) и озонирования в микроволновой печи Milestone ETHOS D (Milestone Laboratory, Agriculture/Food/Environment, Rev.0/2002). Все измерения ТМ проводили методом ИСП-ОЭС на оптико-эмиссионном спектрометре Agilent 5110 (М-МВИ-80-2008).

Статистическая обработка данных. Результаты обрабатывали с применением однофакторного дисперсионного анализа; достоверность различий оценивали с помощью теста Тьюки ($p \leq 0.05$). Финальные данные обрабатывали с применением метода главных компонент с учетом переменных, характеризующих ростовые характеристики тест-растений в вегетационном опыте (длина корней, длина побегов на 30 сутки, сухая биомасса, количество цветков на 1 растение) и содержание ТМ в почвах (валовое содержание и водорастворимая форма). Все расчеты сделаны в статистическом пакете Statistica 10 (StatSoft Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Химическая характеристика почвенных образцов. Данные химического анализа показали, что исследуемые почвы значительно (в 3 раза) различались по содержанию органического вещества. Почва S1 помимо высокого содержания гумуса характеризовалась также высокой обеспеченностью азотом, фосфором и калием, тогда как в бедной гумусом почве S2 содержание питательных элементов было в разы меньше (табл. 1). Эти показатели определяют уровень плодородия, а также, что важно для нашего эксперимента, разную буферную способность и устойчивость к загрязнению ТМ. Кроме того, почвы различались исходным содержанием меди, свинца и цинка, причем концентрации этих металлов были больше в богатой углеродом почве (Cu и Pb в 2 раза, а Zn почти в 3 раза), что свидетельствует о больших дозах удобрений, применявшихся на этом поле и определенном обогащении почвы элементами, входившими в состав удобрений. Согласно установленным критериям степени загрязненности исходя из полученных данных химического анализа о содержании ТМ, почвы обоих полей следует отнести к категории незагрязненных. Таким образом, испытываемые добавки загрязняющих веществ (меди, свинца и цинка) и углеродсодержащих веществ — лигногумата и биоугля, вносились в исходно нетоксичные по химическим показателям почвы. Внесенные дозы металлов согласно установленным нормативам (ГН 2.1.7.2511-09) пятикратно превышают допустимые значения их концентраций в почвах такого типа.

Внесение солей ТМ естественно привело к возрастанию содержания цинка, меди и свинца более чем на порядок, а также к снижению pH почвы.

Следствием добавки биоугля было 2–3-кратное увеличение содержания органического углерода в почве S1 и 3–5-кратное увеличение содержания органического углерода в почве S2, при этом в 2–4 раза сократилась обогащенность органического вещества азотом (C : N).

Добавки лигногумата лишь незначительно повысили уровень органического углерода и подвижного калия, а также незначительно повлияли на другие показатели почв (табл. 1).

Химический анализ водной вытяжки. Наибольшей миграционной способностью и доступностью для растений обладают растворимые в воде соединения ТМ, о концентрации которых можно судить по содержанию ТМ в водных вытяжках, приведенных в табл. 2. Результаты опыта показали, что, несмотря на высокий уровень загрязнения почв, в водную вытяжку переходит лишь незначительная часть ТМ в соответствии с растворимостью их соединений и константами устойчивости комплексов, причем наиболее значительно в водную вытяжку переходит цинк.

При одинаковом уровне внесения ТМ в почвы, их выход в водную вытяжку из слабоокультуренной почвы на порядок выше, чем на сильноокультуренной почве. Это явление связано с тем, что в высокоокультуренной почве за счет высокого содержания органического вещества количество сорбционных центров, с которыми могут прочно связаться ТМ, намного больше, чем в слабоокультуренной.

Влияние углеродсодержащих препаратов на подвижность ТМ в условиях модельного загрязнения также различалось в зависимости от степени окультуренности почвы. В почве S1 некоторое уменьшение содержания водорастворимых форм выявлено только после 30-дневной экспозиции и выращивания горчицы. В почве S2 ремедиационный эффект препаратов выражен значительно сильнее: содержание водорастворимых форм ТМ снижалось для всех изученных элементов в 1.5–3 раза.

Оценка фитотоксичности. Влияние ТМ на почвы, различающиеся по содержанию органического углерода, проявилось в разной степени ингибирования всхожести и длины корней растения *S. alba*.

Различия между сильно- и слабоокультуренными образцами почв с ТМ заметны как при аппликационном, так и элюатном способах оценки острой фитотоксичности (рис. 1).

При элюатном способе фитотестирования элюат из загрязненного ТМ образца S2 подавлял рост корней на 21% относительно контроля, тогда как элюат из образца S1 оказался нетоксичным.

Таблица 1. Агрохимическая характеристика агродерново-подзолистых почв опыта (0–20 см)

Вариант	C _{орг}	N _{общ}	C : N	pH	NH ₄	NO ₃	P ₂ O ₅	K ₂ O	Cu*	Pb*	Zn*
	%										
Сильнокультуренная почва S1											
Контроль (К)	3.86	0.33	9.3	6.74	21.9	60.7	1685	701	22.0	23.7	89.1
Лигногумат (Л)	4.07	0.34	9.3	6.77	12.3	48.9	1663	1059	23.4	23.9	93.3
Биоуголь (Б)	7.74	0.32	43.5	6.75	11.3	61.8	1528	820	21.7	25.4	99.2
ЛБ	6.08	0.35	28.3	6.75	12.7	32.0	1526	1104	22.9	22.7	95.1
ТМ	3.96	0.33	8.8	6.52	9.5	382	1684	743	485	515	1170
ТМЛ	3.5	0.36	10.0	6.10	8.3	453	1587	1075	669	830	1369
ТМБ	8.19	0.36	28.3	6.18	11.9	390	1679	789	563	526	1217
ТМЛБ	8.73	0.36	29.5	6.33	5.4	403	1642	1164	601	705	1180
Слабокультуренная почва S2											
Контроль (К)	1.30	0.14	11.7	6.28	8.6	65.8	220	194	9.3	10.1	32.0
Лигногумат (Л)	1.39	0.15	12.0	6.35	7.7	38.6	270	464	10.9	9.2	31.6
Биоуголь (Б)	6.53	0.15	24.2	6.41	8.2	48.3	228	286	9.4	9.3	39.7
ЛБ	4.24	0.15	17.4	6.26	8.6	25.9	256	584	12.6	9.9	43.9
ТМ	1.40	0.16	12.0	5.07	19.7	433	205	259	596	712	1191
ТМЛ	1.40	0.14	9.7	5.43	14.1	403	218	429	600	826	1069
ТМБ	4.81	0.17	22.8	5.53	14.7	372	208	365	589	706	1111
ТМЛБ	4.42	0.15	24.3	5.69	11.9	342	218	515	550	683	1090

* Валовое содержание, погрешность не более 10%.

Таблица 2. Содержание ТМ в водных вытяжках, мг/кг

Вариант	До выращивания горчицы			После выращивания горчицы		
	Cu	Pb	Zn	Cu	Pb	Zn
Сильнокультуренная почва S1						
Контроль (К)	0.40	Н.о*	0.40	0.09	0.065	0.20
Лигногумат (Л)	0.08	Н.о.	0.70	0.10	Н.о.	0.20
Биоуголь (Б)	0.06	Н.о.	0.60	0.08	Н.о.	0.20
ЛБ	0.09	Н.о.	0.70	0.12	Н.о.	0.40
ТМ	0.22	0.142	7.20	0.53	0.55	10.6
ТМЛ	0.49	1.701	14.6	0.54	0.23	8.10
ТМБ	0.19	0.189	8.20	0.35	0.33	5.60
ТМЛБ	0.29	0.359	8.00	0.47	0.20	4.40
Слабокультуренная почва S2						
Контроль (К)	0.05	Н.о.	0.5	0.05	Н.о.	0.2
Лигногумат (Л)	0.12	Н.о.	5.3	0.06	Н.о.	0.3
Биоуголь (Б)	0.06	Н.о.	0.5	0.05	Н.о.	0.3
ЛБ	0.06	Н.о.	1.1	0.08	Н.о.	0.4
ТМ	12.8	1.67	240	8.06	0.44	200
ТМЛ	6.3	0.34	179	6.33	0.56	191
ТМБ	8.4	0.51	199	4.92	0.57	174
ТМЛБ	3.9	0.43	170	3.76	0.45	171

* Н.о. — ниже предела обнаружения, равного 0.0001.

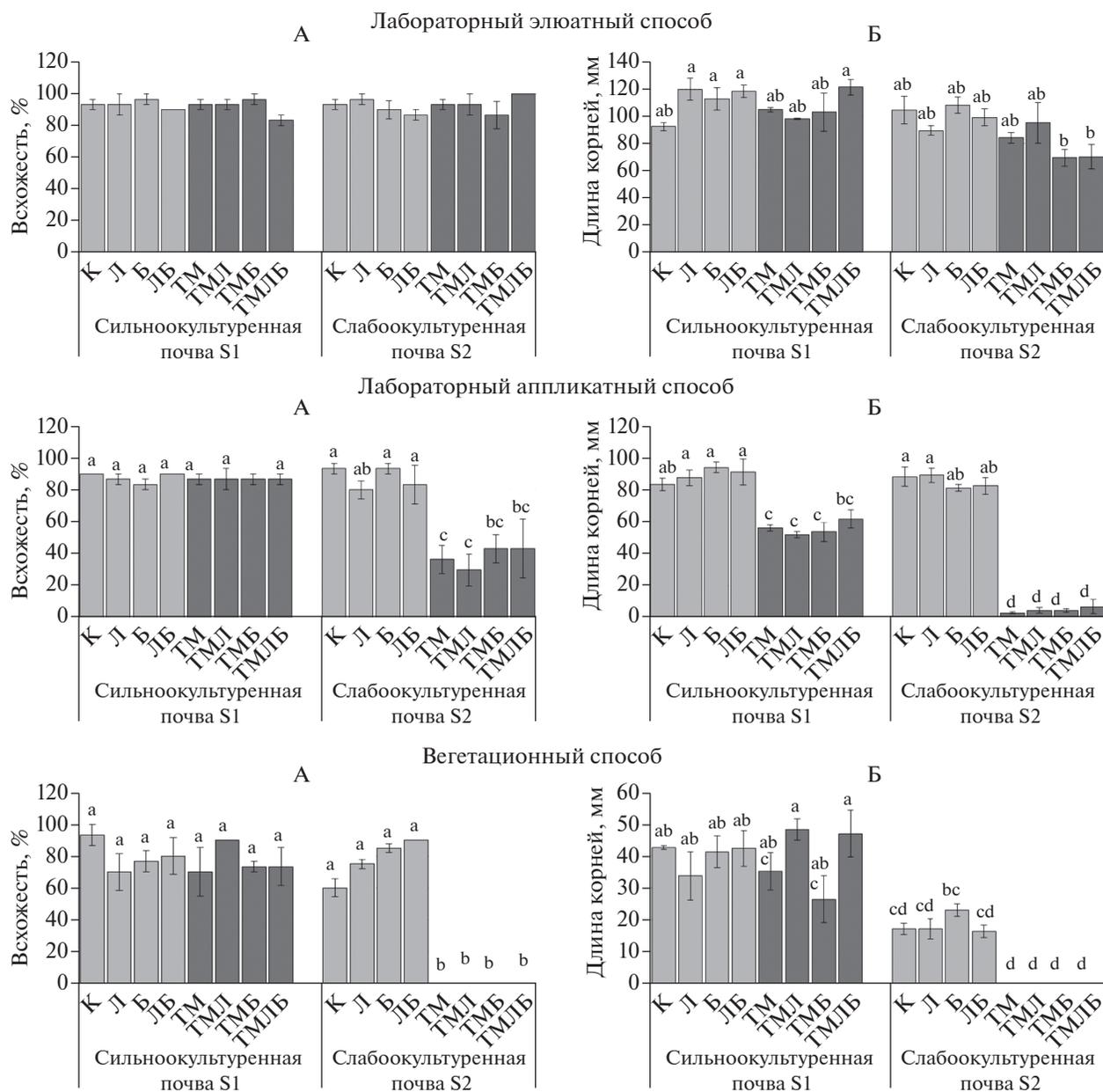


Рис. 1. Влияние полиметаллического загрязнения и углеродсодержащих препаратов на всхожесть семян (А) и длину корней (Б) тест-растений *S. alba* в сильно- (S1) и слабокультуренной (S2) почве при элюатном, аппликатном и вегетационном фитотестировании. Среднее \pm стандартная ошибка среднего ($n = 3$); величины с разными буквами различаются значимо ($p \leq 0.05$, критерий Тьюки). К – контроль, Л – лигногумат, Б – биоуголь, ЛБ – лигногумат и биоуголь, ТМ – тяжелые металлы, ТМЛ – тяжелые металлы и лигногумат; ТМБ – тяжелые металлы и биоуголь, ТМЛБ – тяжелые металлы, лигногумат и биоуголь.

При фитотестировании образцов аппликатным способом различия в тест-параметрах между почвами были еще заметнее. Всхожесть семян в вариантах почвы S1 с добавками достоверно не отличалась от образцов без добавок, в то время как в почве S2, загрязненной ТМ, всхожесть семян снижалась более чем на 50%. При этом добавки биоугля в отдельности и совместно с лигногуматом несколько повышали их всхожесть, однако

эти изменения не были достоверно значимыми. В почве S1 наблюдалось подавление роста корней на 35%, а в почве S2 – на 99%.

Оценка развития растений в вегетационном опыте подтвердила существенные различия в реакции разных почв на действие тяжелых металлов. Как видно из представленных данных, ТМ ингибировали рост корней растений всего лишь на 10% в образцах S1, в то время как в почве S2

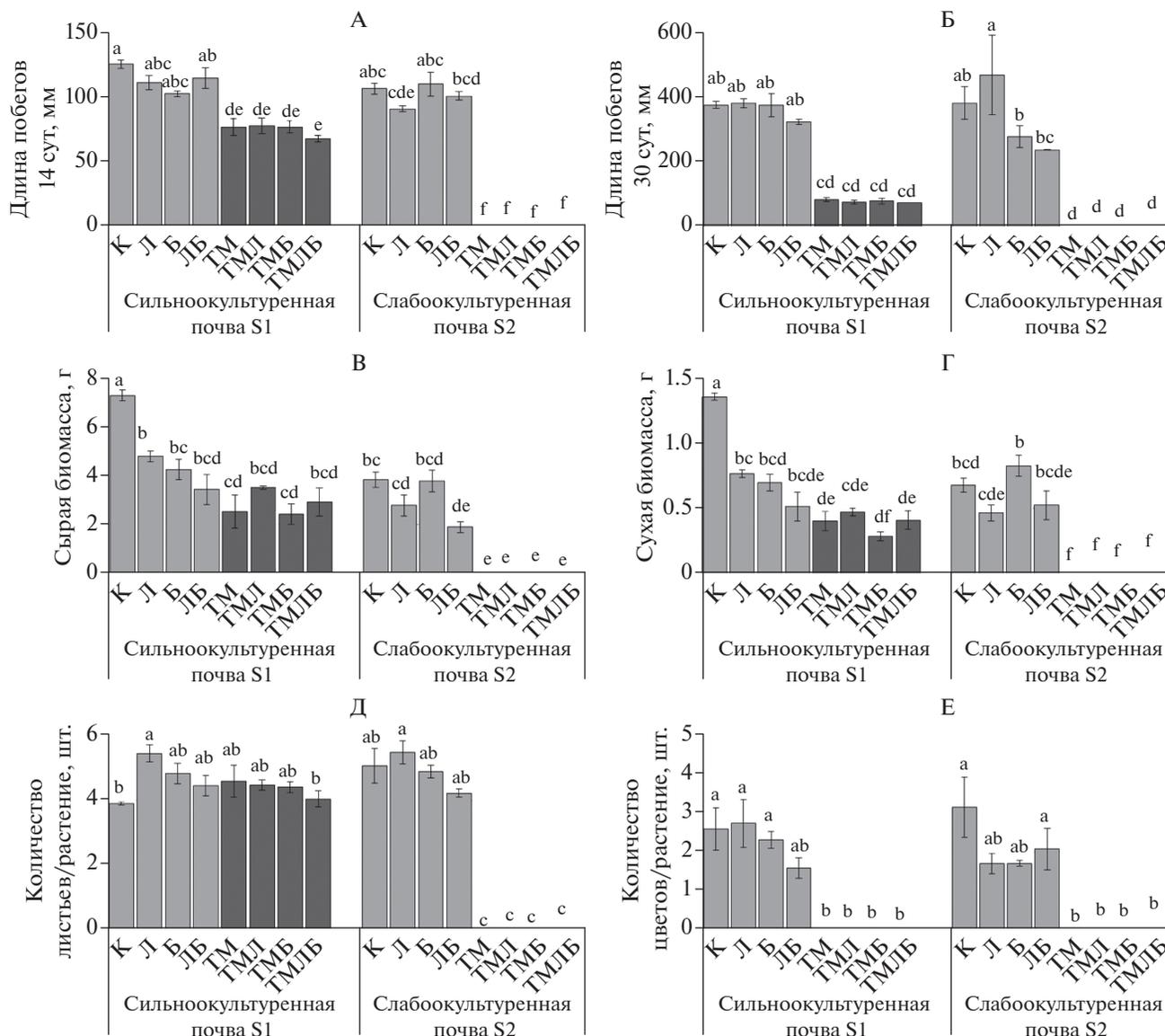


Рис. 2. Влияние полиметаллического загрязнения и углеродсодержащих препаратов на длину побегов (А, Б), биомассу (В, Г), количество листьев (Д) и цветков (Е) тест-растений *S. alba* в сильно- (S1) и слабокультуренной (S2) почвах при вегетационном фитотестировании. Среднее ± стандартная ошибка среднего ($n = 3$); величины с разными буквами различаются значимо ($p \leq 0.05$, критерий Тьюки). Обозначения вариантов см. рис. 1.

воздействие ТМ выразилось в полном подавлении роста растений в вегетационных сосудах.

Достоверного влияния лигногумата и биоугля на исследованные во всех трех биотестах показатели развития корней и всхожести не обнаружено ни в одном из вариантов, за исключением варианта богатой почвы S1 со смесью лигногумата и биоугля, в котором ремедианты несколько нейтрализовали токсический эффект ТМ (аппликатный способ).

В вегетационном опыте реакция растений на полиметаллическое загрязнение оценивалась дополнительно по ряду других стандартных тест-па-

раметров (ГОСТу Р ИСО 22030-2009): были зафиксированы различия между вариантами по длине ростков во временной динамике, развитию цветков, листьев и биомассе (рис. 2).

Длина побегов растений на незагрязненных образцах обеих почв достоверно не различалась ни на 14-е, ни на 30-е сутки (рис. 2, А, Б). При внесении ТМ наблюдалось достоверное угнетение роста растений, при этом в почве S1 примерно на 30%, в почве S2 – на 100%.

Аналогичные изменения наблюдались и по показателю биомассы. Внесение лигногумата и биоугля не оказало значимого влияния на длину рост-

Таблица 3. Содержание ТМ в растениях горчицы в разных вариантах опыта, мг/кг

Вариант	Cu	Pb	Zn	Cu	Pb	Zn
	сильноокультуренная почва S1			слабоокультуренная почва S2		
Контроль (К)	4.4	1.5	37.1	8.1	3.5	50.5
Лигногумат (Л)	8.8	3.8	53.0	7.7	1.1	87.2
Биоуголь (Б)	6.3	2.0	40.7	5.4	1.2	64.0
ЛБ	7.3	1.7	47.2	6.5	1.1	68.7
ТМ	88	22.2	1260	Растения не выросли		
ТМЛ	48	19.6	910			
ТМБ	113	32.3	1291			
ТМЛБ	149	47.3	1149			

ков и биомассу в обеих почвах. Улучшения ростовых параметров и биомассы при их внесении по фону загрязнения ТМ ни в одной, ни в другой почве не наблюдалось.

ТМ в почве S1 вызвали достоверные изменения в формировании листьев растений и полностью подавили формирование цветков. Внесение углеродсодержащих препаратов не снизило токсический эффект ТМ и по этим показателям.

Содержание ТМ в растениях. Растения горчицы, выросшие на незагрязненных почвах, характеризовались невысоким содержанием Cu, Pb и Zn (табл. 3). После внесения биоугля содержание Cu и Pb увеличилось в 1.5 раза, при внесении лигногумата в 2 раза, а при их совместном внесении в 1.6 раза. Содержание Zn увеличилось в меньшей степени. Можно отметить, что углеродсодержащие препараты в незагрязненных образцах способствуют некоторому накоплению ТМ в биомассе растений, но до безопасных уровней.

Загрязнение почв металлами вызвало значительное их накопление в биомассе растений: содержание Cu в растениях увеличилось в 20 раз, Pb – в 14 раз, а Zn – в 34 раза.

Таблица 4. Коэффициенты накопления ТМ в сухой биомассе растений *S. alba* по данным вегетационного фитотестирования образцов почвы S1

Вариант	Cu	Pb	Zn
Контроль (К)	0.14	0.05	0.28
Лигногумат (Л)	0.29	0.10	0.35
Биоуголь (Б)	0.23	0.07	0.29
ЛБ	0.22	0.06	0.37
ТМ	0.12	0.02	0.87
ТМЛ	0.06	0.01	0.58
ТМБ	0.15	0.03	0.91
ТМЛБ	0.21	0.05	0.73

Внесение лигногумата в загрязненную почву (ТМЛ) вызывало снижение содержания в растениях Cu на 45%, Pb на 12%, Zn на 28% по сравнению с растениями, выросшими на загрязненной почве без добавок (ТМ). Биоуголь практически не повлиял на накопление растениями Zn, однако привел к повышению содержания в растениях Cu (на 28%) и Pb (на 45%). Его совместное применение с лигногуматом способствовало снижению содержания в растениях Zn (на 9%), тогда как содержание Cu и Pb увеличилось. Были рассчитаны коэффициенты накопления растениями Cu, Zn и Pb для вариантов опыта на высокоокультуренной почве S1 (табл. 4). Полученные закономерности различны в зависимости от природы элемента. Для Cu и Pb наблюдается общая закономерность: при низком содержании элемента в почве накопительная способность растений увеличивается (что согласуется с литературными данными [11, 26]), причем оба ремедианта способствуют их аккумуляции в растении. Zn, наоборот, больше накапливается растениями горчицы при высоком содержании элемента в почве. По высокому фону содержания ТМ для всех трех элементов наблюдается снижение их биоаккумуляции при внесении лигногумата, тогда как биоуголь не оказывает ремедиационного эффекта.

Взаимосвязь результатов фитотестирования и химической характеристики почвы. Метод главных компонент (ГК) позволил обобщить и выявить закономерности в изменении реакций растений в зависимости от почвенных свойств. Показано, что первые две ГК являются наиболее значимыми (собственные значения >1) и объясняют суммарно 87% общей изменчивости экспериментальных данных (рис. 3).

Установлено, что характеристикой, определяющей параметры развития растений (длину ростков, корней, биомассу, число листьев и цветков) являются почвенные свойства: присутствие ТМ (ГК1) и степень окультуренности (гумусированности) (ГК 2). Ремедирующий эффект лигногу-

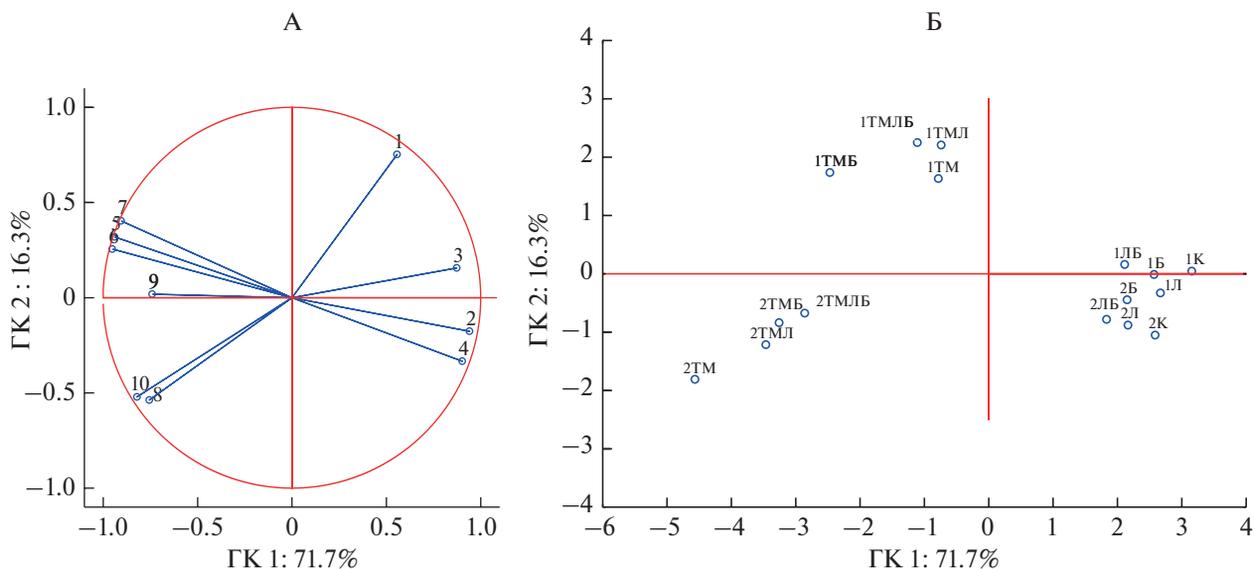


Рис. 3. Проекция переменных (А) и проекция наблюдений (Б) на первую и вторую главные компоненты. А: 1 – длина корней на 30 сут, мм; 2 – длина побегов на 30 сут; 3 – сухая биомасса; 4 – количество цветков на 1 растение; 5 – валовое содержание Cu в почве; 6 – валовое содержание Pb в почве; 7 – валовое содержание Zn в почве; 8 – содержание Cu в вытяжке; 9 – содержание Pb в вытяжке; 10 – содержание Zn в вытяжке; обозначения см. рис. 1.

мата и биоугля на образцах загрязненных почв не проявился. И в той, и в другой почве загрязненные ТМ образцы без ремедиантов и с ремедиантами попадают в одни и те же группы.

ГК 1 отражает преимущественно градиент изменения содержания ТМ и параметры развития растений в почвах с разными вариантами обработки, а ГК 2 – взаимосвязь гумусированности и параметры развития растений. Вдоль ГК 1 показана четкая дифференциация почв с ТМ (слева) и без их внесения (справа). Распределение почв вдоль ГК 2 связано преимущественно с исходными свойствами почв.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты фитотестирования показали, что при полиметаллическом загрязнении равным количеством тяжелых металлов (Cu, Pb, Zn) агродерново-подзолистых почв, различающихся в 3 раза по содержанию органического углерода и в целом по степени окультуренности, токсичность почв заметно отличается. Подобная закономерность во влиянии неблагоприятного гумусного состояния на повышение экологических рисков при выраженном техногенном загрязнении почв отмечалась ранее [4, 11, 14, 16]. В частности, в сильноокультуренных песчаных дерново-подзолистых почвах на третий год после загрязнения подвижность Pb и Cd уменьшалась на 37 и 25% соответственно, что приводило к сокращению уровня накопления Pb и Cd в продукции в 1.6–2.4 раза относительно слабоокультуренных почв [4].

Изменение подвижности металлов в почве при разном содержании органического углерода свидетельствует о тесной связи токсикантов с органическим веществом. Биодоступность катионов цинка, меди и свинца в исследованных агродерново-подзолистых почвах с разным содержанием органического углерода хорошо коррелирует с результатами фитотестирования.

В соответствии со стандартными методиками анализ токсичности водной фазы почв проводится по вытяжке (элюату) в соотношении 1 : 4 [9, 32], которая является лишь имитацией почвенного раствора. Тем не менее, такой скрининговый способ информативен при сравнительной оценке биодоступности токсикантов. Элюат образцов слабоокультуренной почвы (S2) с ТМ оказал токсическое действие на рост корней в три раза большее, чем элюат образцов сильноокультуренной почвы (S1). Элюат почвы S1, загрязненной ТМ, оказывал даже небольшое (13%) стимулирующее действие на рост корней, что связано с закреплением токсичных катионов металлов на твердых частицах почв, как об этом свидетельствуют сравнительные данные химического состава водной вытяжки и почв. Уменьшению доступности в сильноокультуренных почвах может способствовать и фосфор, связывающий ТМ в нерастворимые фосфаты. Одновременно с ТМ в водную вытяжку переходят питательные вещества, которых больше в сильноокультуренной почве, и поэтому в этом варианте наблюдается нейтрализация токсического эффекта металлов.

Сравнение элюатных и аппликатных способов биотестирования проводили на образцах разных почв (аллювиальных луговых насыщенных, агродерново-подзолистых пахотных, дерново-подзолистых типичных), загрязненных токсикантами [13, 14, 28]. Отклики гидробионтных тест-организмов, широко применяемых для оценки токсичности элюатов, закономерно характеризовали изученные почвы как значительно менее токсичные, чем реакции тест-организмов, непосредственно контактировавших с почвами (черви и семена растений *Eisenia fetida* и *Sinapis alba*) [14]. Такие различия свидетельствуют о необходимости совершенствования методик оценки токсичности жидкой фазы почв.

Результаты вегетационного опыта (определение хронической токсичности) наиболее ярко продемонстрировали положительную роль окультуривания в детоксикации почв: загрязнение ТМ привело к угнетению развития растений в почве S1 (примерно на 30%), а в почве S2 – к полной гибели. Наблюдается наибольшая положительная корреляция данных аппликатного лабораторного и вегетационного фитотестирования ($k = 0.8$), тогда как между результатами элюатного и вегетационного фитотестирования она наименьшая ($k = 0.1$).

Для нейтрализации неблагоприятных воздействий и восстановления экологических функций почв применяют углеродсодержащие ремедианты. В некоторых случаях описывается кумулятивный эффект гуминовых продуктов и биоугля на снижение токсичности почв, загрязненных тяжелыми металлами в природных условиях [28]. В нашей работе фитотоксичность ТМ в большей степени зависела от степени гумусированности (окультуренности) почвы, чем от внесения ремедиантов. В целом можно констатировать, что лигногумат чаще оказывал положительное действие, сокращая биодоступность ТМ, по сравнению с биоуглем, эффективность которого в исследованных вариантах была заметна в основном лишь в сочетании с лигногуматом (табл. 4).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Невозможно охарактеризовать состояние биоты при одних и тех же нагрузках в разных экологических условиях на основе данных только химических анализов. Резистентность к тяжелым металлам сильногумусированных почв отмечалась во многих работах [4, 7, 8, 10, 11], однако в нормативных документах и методических рекомендациях по оценке почв корреляции между тест-реакциями живых систем и допустимым содержанием токсикантов при разном уровне содержания органического углерода не отражены. Действующим нормативным документом, согласно которому в настоящее время осуществляют оценку уровня загрязнения почв и мониторинг содержания тя-

желых металлов в почвах, является ГН 2.1.7.2511-09 “Ориентировочно допустимые концентрации (ОДК) химических веществ в почве”. В нем при регламентации ОДК ТМ рассматриваются лишь особенности гранулометрического состава почв (песчаные и супесчаные, глинистые и суглинистые) и значения кислотности ($pH_{KCl} > 5.5$ или < 5.5), в зависимости от которых значения ОДК Cu, Pb, Zn могут изменять более чем в четыре раза. Наши результаты показывают, что различия по содержанию органического углерода в почвах в три раза при сходном уровне pH и гранулометрического состава обеспечивают значимо разную реакцию растений на одну и ту же концентрацию тяжелых металлов. Из этого следует, что при разработке нормативов ориентировочно допустимого содержания ТМ для сходных по pH и другим физико-химическим параметрам почв одного типа (агродерново-подзолистые) необходимо учитывать различия по содержанию гумуса.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Исследование выполнено в рамках Программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова “Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды”.

Авторы признательны ведущему научному сотруднику Г.К. Васильевой за интерес к обсуждению результатов, профессору О.А. Макарову за консультации и младшему научному сотруднику П.В. Учанову за помощь при отборе образцов почв.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ (грант 18-04-01218а).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Водяницкий Ю.Н. Оценка суммарной токсикологической загрязненности почв тяжелыми металлами и металлоидами // *Агрохимия*. 2017. № 2. С. 56–63.
2. Водяницкий Ю.Н., Ладонин Д.В., Савичев А.Т. Загрязнение почв тяжелыми металлами. М., 2012. 304 с.
3. Воробейчик Е.Л., Садыков О.Ф., Фарафонов М.Г. Экологическое нормирование техногенных загрязнений наземных экосистем (локальный уровень). Екатеринбург: УИФ Наука, 1994. 281 с.
4. Иванов А.И., Суханов П.А., Иванова Ж.А., Яковлева Т.И. Агроэкологическое значение окультуривания песчаных дерново-подзолистых почв при загрязнении Pb и Cd // *Агрохимия*. 2019. № 4. С. 70–78. <https://doi.org/10.1134/S0002188119040070>

5. Ильин В.Б. Тяжелые металлы в системе почва-растение // Почвоведение. 2007. № 9. С. 112–119.
6. Кирюшин В.И. Методология комплексной оценки сельскохозяйственных земель // Почвоведение. 2020. № 7. С. 871–879.
<https://doi.org/10.31857/S0032180X20070060>
7. Копчик Г.Н. Проблемы и перспективы фиторемедиации почв, загрязненных тяжелыми металлами (обзор литературы) // Почвоведение. 2014. № 9. С. 113–1130.
8. Левич А.П. Биотическая концепция контроля природной среды // Доклады Академии наук. 1994. Т. 337. № 2. С. 257–259.
9. Методика измерения биологической активности гуминовых веществ методом фитотестирования (“Фитоскан”) ФР.1.39.2012.11560.
10. Минкина Т.М., Мотузова Г.В., Назаренко О.Г. Взаимодействие тяжелых металлов с органическим веществом чернозема обыкновенного // Почвоведение. 2006. № 7. С. 804–811.
11. Минкина Т.М., Мотузова Г.В., Назаренко О.Г., Крыщенко В.С., Самохин А.П., Манджиева С.С. Накопление тяжелых металлов растениями ячменя на черноземе и каштановой почве // Агрохимия. 2009. № 10. С. 53–63.
12. Николаева О.В., Терехова В.А. Совершенствование лабораторного фитотестирования для экотоксикологической оценки почв // Почвоведение. 2017. № 9. С. 1141–1152.
13. Плеханова И.О., Золотарева О.А., Тарасенко И.Д. Применение методов биотестирования при оценке экологического состояния почв // Вестник Моск. ун-та. Сер. 17, почвоведение. 2018. № 4. С. 36–46.
14. Пукальчик М.А., Терехова В.А., Вавилова В.М., Карпухин М.М. Сравнение элюатных и контактных методов биотестирования при оценке почв, загрязненных тяжелыми металлами (иодами) // Почвоведение. 2019. № 4. С. 507–514.
<https://doi.org/10.1134/S0032180X19040117>
15. Терехова В.А., Шитиков В.К., Иванова А.Е., Кыдралиева К.А. Оценка экологического риска техногенного загрязнения почвы на основе статистического распределения встречаемости видов микромицетов // Экология. 2017. № 5. С. 339–346.
<https://doi.org/10.7868/S0367059717050031>
16. Abd El-Azeem S.A.M., Ahmad M., Usman A.R.A., Oh S.E., Lee S.S., Ok Y.S. Changes of biochemical properties and heavy metal bioavailability in soil treated with natural liming materials // Environ. Earth Sci. 2013. V. 70. P. 3411–3420.
<https://doi.org/10.1007/s12665-013-2410-3>
17. Barsova N., Yakimenko O., Tolpeshhta I., Motuzova G. Current state and dynamics of heavy metal soil pollution in Russian Federation – A review // Environ. Poll. 2019. V. 249 P. 200–207.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.020>
18. Beesley L., Jiménez E.M., Eyles J.L.G. Effects of biochar and green waste compost amendments on mobility, bioavailability and toxicity of inorganic and organic contaminants in a multi-element polluted soil // Environ. Pollut. 2010. V. 158. P. 2282–2287.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.02.003>
19. Beesley L., Moreno-Jiménez E., Gomez-Eyles J.L., Harris E., Robinson B., Sizmur T. A review of biochars’ potential role in the remediation, revegetation and restoration of contaminated soils // Environ. Poll. 2011. V. 159. № 12. P. 3269–3282.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.07.023>
20. Bezuglova O. Molecular structure of humus acids in soils // J. Plant Nutr. Soil Sci. 2019. P. 676–682.
<https://doi.org/10.1002/jpln.201900043>
21. Blok C., Persoone G., Wever G. A practical and low cost microbiotest to assess the phytotoxic potential of growing media and soil // ISHS Acta Horticulturae. 2008. V. 779. P. 367–374.
22. Borggaard O.K., Holm P.E., Jensen J.K., Soleimani M., Strobel B.W. Cleaning heavy metal contaminated soil with soluble humic substances instead of synthetic polycarboxylic acids // Acta Agric. Scand. 2011. V. 61. P. 577–581.
<https://doi.org/10.1080/09064710.2010.515602>
23. Hinojosa M.B., Ruiz R.G., Vinegla B., Carreira J.A. Microbiological rates and enzyme activities as indicators of functionality in soils affected by the Aznalcóllar toxic spill // Soil Biol. Biochem. 2004. V. 36. № 10. P. 1637–1644.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.07.006>
24. GWRTAC “Remediation of metals-contaminated soils and groundwater,” Tech. Rep. TE-97-01, GWRTAC, Pittsburgh, Pa, USA, 1997, GWRTAC-E Series.
25. Meychik N.R., Yermakov I.P. Ion exchange properties of plant root cell walls // Plant and Soil. 2001. V. 234. P. 181–193.
26. Mirecki N., Agič R., Šunić L., Milenković L., Ilić Z.S. Transfer factor as indicator of heavy metals content in plants // Fresenius Environ. Bull. 2015. V. 24. № 11C. P. 4212–4219.
27. Pukalchik M., Kydralievа K., Yakimenko O., Fedoseeva E., Terekhova V. Outlining the potential role of humic products in modifying biological properties of the soil – a review // Frontiers Environ. Sci. 2019. № 7.
<https://doi.org/10.3389/fenvs.2019.00080>
28. Pukalchik M., Merc F., Terekhova V.A., Tlustos P. Biochar, wood ash, and humic substances mitigating trace elements stress in contaminated sandy loam soil: evidence from an integrative approach // Chemosphere. 2018. V. 203. P. 228–238.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.181>
29. Singh R., Gautam N., Mishra A., Gupta R. Heavy metals and living systems: An overview // Indian J. Pharmacol. 2011. V. 43. P. 246–253.
<https://doi.org/10.4103/0253-7613.81505>
30. Stowhas T., Verdejo J., Yanez C., Celis-Diez J.L., Martínez C.E., Neaman A. Zinc alleviates copper toxicity to symbiotic nitrogen fixation in agricultural soil affected by copper mining in central Chile // Chemosphere. 2018. V. 209. P. 960–963.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.166>
31. Szakova J., Krychova M., Tlustos P. The Risk Element Contamination Level in Soil and Vegetation at the Former Deposit of Galvanic Sludges // J. Soils Sediments. 2016. V. 16. P. 924–938.

32. *Terekhova V.A.* Soil bioassay: Problems and approaches // Eurasian Soil Science. 2011. V. 44. № 2. P. 173–179. <https://doi.org/10.1134/S1064229311020141>
33. *Umlaufova M., Száková J., Najmanová J., Sysalová J., Tlustoš P.* The soil-plant transfer of risk elements within the area of an abandoned gold mine in Libčice, Czech Republic // J. Environ. Sci. Health. Part A. 2018. V. 53. P. 1267–1276. <https://doi.org/10.1080/10934529.2018.1528041>
34. *Wang Y., Björn L.O.* Heavy metal pollution in Guangdong Province, China and the strategies to manage the situation // Frontiers Environ. Sci. 2014. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2014.00009>
35. *Wuana R.A., Okieimen F.E.* Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation // ISRN Ecology. 2011. P. 1–20.
36. *Yadav S.K.* Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants // S. Afr. J. Bot. 2010. V. 76. P. 16–179.
37. *Yakimenko O.S., Terekhova V.A.* Humic preparations and the assessment of their biological activity for certification purposes // Eurasian Soil Sci. 2011. V. 44. P. 1222–1230. <https://doi.org/10.1134/S1064229319070159>
38. *Yang Q.Q., Li Z.Y., Lu X.N., Duan Q.N., Huang L., Bi J.* A review of soil heavy metal pollution from industrial and agricultural regions in China: Pollution and risk assessment // Sci. Total Environ. 2018. V. 42. <https://doi.org/690-70010.1016/j.scitotenv.2018.06.068>

Phytotoxicity of Heavy Metals in Contaminated Spodosols of Different Fertility Levels

V. A. Terekhova^{1, 2, *}, E. V. Prudnikova¹, A. P. Kiryushina², M. M. Karpukhin¹,
I. O. Plekhanova¹, and O. S. Yakimenko¹

¹Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

²Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia

*e-mail: vterekhova@gmail.com

Comparative studies of the effects of heavy metals (HMs: Cu 660 + Zn 1100 + Pb 650 mg/kg) on cultivated Spodosols of two fields (Chashnikovo, Moscow region) with different contents of organic carbon (C_{org} 3.86 and 1.30%) and different fertility levels were carried out according to indicators of acute and chronic phytotoxicity. It was found that, at the same level of polymetallic contamination, the responses of test plants to the presence of high concentrations of HMs and potential remediants (lignohumate and biochar) in soils of the same type with different C_{org} contents noticeably varies in growth parameters and metal accumulation in the phytomass. The HM contamination of low-fertile soil led to complete death of plants in the pot experiment, while in highly fertile soil, plants continued to develop until flowering with slight deviations from the control. Experimental data on the total and water-soluble HM species, as well as nutrients in the studied soils are presented. Using principle components analysis, the relationships between the chemical composition of soils and the results of phytotests have been found. It is shown that three-fold differences in the content of C_{org} at a similar pH and soil texture provide significantly different reactions of plants to the same concentration of HMs. The necessity of correcting the standards for the permissible thresholds for HM content for soils, considering the C_{org} content in addition to pH and texture, is discussed.

Keywords: environmental assessment of soils, bioassay, organic carbon, polymetallic pollution, rationing, lignohumate, biochar, bioavailability, copper, zinc, lead