

УДК 631.427:631.879.2:631.95

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ПРИ ЭКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКЕ ХИМИЧЕСКИХ МЕЛИОРАНТОВ КИСЛЫХ ПОЧВ (ЗОЛОШЛАКОВЫХ ОТХОДОВ ТЭЦ)

А.Л. ПРЯДКО, А.И. ОКОНСКИЙ, Н.В. РУСАКОВ, В.А. ЧЕРНИКОВ

(Кафедра экологии, ВНИПТИХИМ, НИИЭЧ
И ГОС АМН РФ)

Представлены данные биологического тестирования бурогоугольной золы с применением различных методов и тест-объектов. Изучался структурно-групповой состав микроорганизмов мелиорируемых почв, фитотоксичность золы (по влиянию на проростки растений и организмы-гидробионты), а также биологическое влияние на организмы теплокровных лабораторных животных.

Результаты микробиологических исследований показали, что воздействие вносимых мелиорантов проявляется в возрастании численности микроскопических грибов, стимуляции автохтонной микрофлоры, угнетении азотобактера. Показана возможность использования реакции живых организмов-гидробионтов на загрязнители в качестве критерия токсичности химических мелиорантов.

Прямые физиологические эксперименты на теплокровных лабораторных животных позволили выявить общетоксическое, гонадотоксическое и аллергологическое действие обоих видов золы.

Методы химического тестирования в системе почва — растение в условиях применения средств химизации являются основополагающими для получения необходимой информации о возможности использования и регламенте применения удобрений, мелио-

рантов, химических средств защиты растений и т.п. В качестве критериев при этом используют показатели ПДК элементов или соединений в почве, питьевой воде и сельскохозяйственной продукции. Однако следует отметить, что показатели ПДК для многих

элементов (в частности, тяжелых металлов) в почвах еще не разработаны или не утверждены, а почти все имеющиеся определены без учета генетических признаков и свойств почв, т.е. «для почвы вообще». В связи с этим результаты химического тестирования не могут служить единственным и надежным критерием при изучении возможности применения новых видов удобрений и меллиорантов (особенно создаваемых на основе промышленных отходов) или при определении опасности (степени) загрязнения агроэколандшафтов промстоками различных предприятий.

Несомненно, методы биологического тестирования средств химизации, различных поллютантов и загрязнителей ими почв являются важным и существенным дополнением в таких исследованиях. При этом большое внимание должно уделяться, в частности, влиянию средств химизации на почвенную микробиоту, поскольку микроорганизмы по своей массе и биохимической активности являются ведущими организмами, способными осуществлять различные превращения (например, трансформацию органического вещества в почве) и замыкать циклы биофильных элементов, а также вызывать или провоцировать различные заболевания растений [2, 12, 13]. По мнению ряда исследователей [4], именно микробиологические показатели в наибольшей степени подходят для ранней диагностики загрязнения почв.

Уникальной моделью для биологической оценки воздействия тех или иных факторов являются также простейшие организмы-

гидробийонты, которые можно с успехом применять для получения интегральной характеристики антропоэкологической ситуации [1, 3, 5, 6, 22]. Показана возможность применения таких тест-объектов (одноклеточных водорослей, дафний, тетрахмен и др.) в токсикологических исследованиях с целью определения цитологического действия различных веществ и сложных смесей, а также характера комбинированного действия нескольких веществ (суммация, потенцирование, антагонизм) по их цитотоксическому действию и т.д.

Важнейшим звеном в проведении биологических экспериментов являются прямые методы исследования с использованием тепловых лабораторных животных. Результаты такого рода экспериментов позволяют достаточно надежно экстраполировать полученные данные на организм человека.

Эти и другие методы биотестирования были предложены нами [18, 19] в качестве одного из составных блоков комплексной эколого-гигиенической схемы оценки химических меллиорантов (промышленных отходов). В настоящей работе представлены результаты биологических исследований на примере изучения возможности использования двух видов бурого угля как химических меллиорантов кислых почв.

Методика

В качестве объектов изучения использовали низкокальциевую золу, получаемую при сжигании бурого подмосковного угля и торфа на Шатурской ГРЭС, а также

высококальциевую золу бурых углей Ирша-Бородинского месторождения КАТЭК. Характеристика золы приведена в работах [7—9]. Образцы мелниорируемых золой почв были взяты из вариантов вегетационных и лабораторных опытов, заложенных нами для почвенно-агрохимической и токсикологической оценок этих мелниорантов. Дозы мелниорантов определяли из расчета полной нейтрализации гидrolитической кислотности сильноокислой дерново-подзолистой почвы (рН^{сол} 4,0; рН^{вод} 5,10; Нг ~ ~5,4^{сол} мг-экв/100 г, содержание гумуса 1,5%), используемой в опытах.

Расчетные дозы составили: известняковой муки — 10 т/га, шатурской золы — 60 т/га, иршабординской — 22 т/га.

Микробиологические исследования проводили традиционными методами посевов 10-кратных разведений почвенной суспензии на различные питательные среды. Численность сапрофитных бактерий определяли на МПА, азотобактера — на среде Эшби, актиномицетов — на среде СР-1, почвенных грибов — на среде Чапка — Стокса, кишечную палочку — на среде Эндо, автохтонную микрофлору — на почвенном агаре [2, 21].

Кроме того, оценивали фитотоксичность водных вытяжек золы (с различным соотношением зола : вода) по торможению роста корней проростков ячменя в соответствии с методическими рекомендациями [14].

В методах биотестирования на организмах-гидробионтах были применены рачки *Daphnia magna*,

инфузории *Tetrahymena piriformis* и одноклеточные зеленые водоросли *Scenedesmus quadricaudas*. В исследованиях использовали соответствующие методические рекомендации [16, 17, 20, 24].

Биологическое действие золы на теплокровных лабораторных животных (крысах) оценивали по реакции последних на скормливание сельскохозяйственной продукции (моркови), выращенной на мелниорированной золой почвах, а также на пероральное поступление водных и буферных экстрактов зол [15, 19].

Результаты и обсуждение

При проведении микробиологических тестов мы учитывали, что влияние золы на почвенный микробиоценоз будет обусловлено по крайней мере двумя факторами — изменением реакции почвенной среды (уменьшением кислотности вследствие мелниоративного эффекта) и содержанием в ней нежелательных примесей, в частности тяжелых металлов. В связи с этим в качестве основного контроля нами принимался вариант с исходной почвой (немелниорируемой), а дополнительного — с внесением стандартного химического мелниоранта — известняковой муки.

В результате исследований выявлена тенденция к увеличению микробиологической активности почвы, мелниорируемой известняковой мукой. Так, численность азотобактера, автохтонной микрофлоры, кишечной палочки и грибов превышала контрольные значения на 31—58% (табл. 1). Количество сапрофитных бакте-

Численность (на 1 г почвы) основных групп микроорганизмов в почве

Вариант	Азото- бактер	Сапро- фитные бактерии	Автох- тонная микро- флора	Актино- мицеты	Кишеч- ная па- лочка	Грибы
	x 10 ⁵					
Контроль	20,5	20,1	13,2	1,69	13,3	1220
Известняковая мука, 1 доза	26,8	21,1	20,8	1,20	19,8	1820
Шатурская зола:						
1 доза	26,3	20,3	23,3	1,13	16,4	1240
2 дозы	16,8	18,8	13,6	1,55	14,2	4750
Ирша-бородинская зола:						
1 доза	10,7	24,7	23,0	1,61	9,0	2560
2 дозы	9,0	25,7	11,9	2,56	13,4	3120

рий осталось на том же уровне, а актиномицетов несколько снизилось (на 30%).

При внесении эквивалентной (по нейтрализующей способности) дозы шатурской золы угнетения этих групп микроорганизмов (за исключением актиномицетов) не происходило, однако, как правило, их численность была несколько меньше, чем в варианте с известняковой мукой.

Что касается ирша-бородинской золы, то внесение ее расчетной дозы сопровождалось некоторым уменьшением численности кишечной палочки и азотобактера (на 33 и 48%) и заметным увеличением количества грибов (на 110%), а также автохтонной микрофлоры (на 74%) по сравнению с контролем. По отношению к варианту с известняковой мукой различия по обеднению почвы кишечной палочкой и азотобактером становились еще более заметными (51—61%).

При удвоении расчетных доз обоих видов золы отмечалось угнетение азотобактера и автохтонной

микрофлоры и увеличение численности актиномицетов и грибов.

Из изучаемых групп микробноценоза наибольшими количественными изменениями характеризуются именно грибы, численность которых увеличивается как по сравнению с контролем (на 200—400%), так и по отношению к варианту с известняковой мукой (до 260%). Вместе с тем рост численности грибов происходит, как правило, при подкислении почв [12, 19]. Отмеченные нами нестандартные закономерности (увеличение численности при подщелачивании почвы) могут быть связаны со стимулирующей рост и развития микроскопических грибов, содержащимися в золе элементами, поскольку в научной литературе имеются данные о существенном изменении структурно-группового состава актиномицетов и грибов под влиянием загрязнения почв, в том числе и тяжелыми металлами [12]. Полученные нами данные хорошо согласуются с результатами исследований [10, 11] влияния некоторых видов золы на

микробиологическую активность серых лесных почв Сибири.

Таким образом, проведенные нами микробиологические исследования свидетельствуют об определенном воздействии вносимых мелнирантов на биологическую активность почвы, выражающемся в некотором изменении структурно-группового состава почвенного микробиоценоза (возрастание численности микроскопических грибов, стимуляции автохтонной микрофлоры, угнетении азотобактера), что позволяет сделать вывод о негативном влиянии золы на микробиоценоз исследуемых почв.

Проведение химического и биологического тестирования почвы при изучении возможности применения кальцийсодержащих промышленных отходов (в частности, золы) в качестве химического мелниранта является вполне закономерным и оправданным. Однако следует отметить возможность попадания такого рода отходов не только в почву, но и в водную среду. В настоящее время имеются многочисленные отвалы

и хранилища золы, являющейся одним из самых крупнотоннажных отходов [7]. При их промывании атмосферными осадками, переносе ветром в прилегающие открытые водоемы, а при использовании на некоторых ТЭЦ способе гидрозолаудаления происходит загрязнение грунтовых вод, естественных и искусственных водоемов содержащимися в отходе элементами. В этом случае представляет интерес биотестирование экстрактов (водных вытяжек) золы на различных тест-объектах, в том числе организмах-микроорганизмах и семенах различных сельскохозяйственных культур.

Результаты эксперимента по оценке фитотоксичности золы методом проростков позволили сделать вывод, что исследуемые вытяжки шатурской золы не оказали негативного влияния на всхожесть семян. Вместе с тем водные экстракты ирша-бородинской золы угнетающе действовали на прорастание, причем в случае применения неразбавленного раствора отрицательные изменения были достоверными (табл. 2).

Таблица 2

Длина корней проростков ячменя в опыте с водными экстрактами золы

Разбавление	Длина корней	
	мм	% к контролю
<i>Контроль</i>		
—	88	—
<i>Шатурская зола</i>		
Исходный раствор	96	109
1:10	94	107
1:100	87	99
<i>Ирша-бородинская зола</i>		
Исходный раствор	71	81
1:10	75	85
1:100	82	93

В опыте установлено значительное угнетающее действие нативных экстрактов золы на рост числа одноклеточных водорослей. В начале эксперимента скорость деления клеток *Scenedesmus quadricaudas* в опытных группах практически не отличалась от контроля, но после 28 сут различия стали заметными. На 34-е сутки количество клеток водорослей в варианте с неразбавленным раствором шатурской золы было на 40% меньше, чем в

контроле. В аналогичном варианте с ирша-бородинской золой был обнаружен достоверный токсический эффект: число клеток по сравнению с контролем уменьшилось на 65%. При разбавлении экстрактов в 2—5 раз их угнетающее действие заметно ослабло: снижение численности водорослей на 34-е сутки в этом случае составило для обоих видов золы всего 13—23% по отношению к контрольному варианту (табл. 3).

Таблица 3

Численность клеток одноклеточных водорослей (млн/мл)

Разведение	Сроки учета, сутки						
	1	4	7	10	16	28	34
<i>Контроль</i>							
—	126	204	248	338	506	850	865
<i>Шатурская зола</i>							
Исходное	100	193	218	341	440	520	521
1:2	108	224	236	344	442	726	756
1:4	100	276	276	358	508	730	732
1:5	118	194	246	354	508	794	664
<i>Ирша-бородинская зола</i>							
Исходное	118	191	220	261	297	300	304
1:2	126	194	220	338	478	712	720
1:4	119	205	276	402	525	726	750
1:5	118	216	298	344	508	752	752

Исследования на инфузориях позволили выявить достаточно острое токсическое действие водных вытяжек золы, поскольку гибель организмов отмечалась уже в первые часы наблюдений. Ирша-бородинская зола обладала большим токсическим эффектом, чем шатурская, — через час гибель инфузорий от ее экстракта достигала 26% (табл. 4).

Таблица 4

Численность инфузорий

Вариант	Сроки учета	
	15 мин	1 ч
Контроль	16,8±1,9	16,6±1,9
Шатурская зола	15,0±1,4	13,2±1,2
Ирша-бородинская зола	14,4±0,7	12,3±0,9

Эксперименты с ветвистоусым рачком *Daphnia magna* показали, что водные экстракты обоих видов золы имеют явно выраженный токсический эффект: в неразбавленных водных вытяжках этих зол 100% гибель дафний наблюдалась в течение первых 48 ч (табл. 5). Разведения экстракта шатурской золы

в 4 раза уже не оказывало на рачков острого токсического действия, поскольку даже через 96 ч выживаемость составляла 45% к контролю. Для экстракта ирша-бородинской золы пороговым оказалось разведение 1:3 (выживаемость организмов через 96 ч составила 75% к контролю).

Таблица 5

Выживаемость дафний (%) в водных экстрактах золы

Разведение	Сроки учета, ч				
	12	24	48	72	96
<i>Контроль</i>					
—	100	100	100	100	100
<i>Шатурская зола</i>					
Исходное	100	80	25	0	0
1:2	100	100	66	36	0
1:4	100	100	78	55	45
<i>Ирша-бородинская зола</i>					
Исходное	60	35	2	0	0
1:2	85	75	68	44	30
1:3	100	95	90	82	75

Таким образом, сравнительный анализ биологического действия водных экстрактов зол на различные тест-объекты позволяет сделать вывод о токсичности отходов ТЭЦ. Проведенные исследования подтверждают возможность использования реакции живых организмов-гидробионтов на загрязнители в качестве критерия токсичности химических меллиорантов (промышленных отходов). Поскольку большое значение имеет биологическая экспресс-оценка таких веществ, следует обратить особое внимание на краткосрочные биотесты, которыми в наших исследованиях

являются инфузориин (15 мин, 1 ч) и дафнии (24—96 ч).

Заметим, что именно для тетрахимен и дафний обнаружена хорошо выраженная корреляция между величиной CL_{50} (концентрация средняя смертельная) химических соединений и величиной DL_{50} (доза средняя смертельная) для млекопитающих [23, 25]. Выявленное биологическое воздействие водных вытяжек золы на организм указанных тест-объектов позволило нам предположить и возможное их влияние на организм теплокровных лабораторных животных.

Обнаруженные нами реакции

организма подопытных животных свидетельствовали о том, что действующим негативным эффектом обладали тяжелые металлы. Собственные результаты экспериментальных исследований по биологическому действию золы на организм животных были хорошо сопоставимы с литературными данными о токсическом влиянии тяжелых металлов. В целом, оценивая результаты этих исследований, можно отметить, что влияние комплекса тяжелых металлов обоих видов золы, воздействующих на организм теплокровных животных через воду и пищевые продукты, сопровождается изменением интегральных показателей крови, снижением неспецифической резистентности организма, мембраноповреждающим эффектом (изменением активности ацетилэстеразы, малатдегидрогеназы, лактатдегидрогеназы в сыворотке крови и органах экспериментальных животных), что подтверждается морфологическими данными и свидетельствует о развитии гепато- и нефротоксического действия. Системой количественных морфофункциональных показателей выявлено наличие специфического гонадотоксического эффекта шатурской и в меньшей степени ирша-бородинской золы.

Заключение

Результаты микробиологического тестирования свидетельствуют, что шатурская и ирша-бородинская золы влияют на структурно-групповой состав почвенных микроорганизмов, изменяя его как по сравнению с показателями

в контроле, так и в варианте с традиционным мелниорантом кислых почв — известняковой мукой. Из нескольких групп изучаемых организмов наибольшие различия отмечались в отношении грибов, которые рекомендуется использовать в качестве обязательных тест-объектов при подобных исследованиях. При этом следует уделять внимание не только изменениям их количественного, но и группового состава.

Простейшие организмы, являющиеся одновременно клеткой и организмом, представляют собой еще одну модель для биологической оценки средств химизации. Сравнительная оценка чувствительности тест-объектов показала особую чувствительность дафний в таких исследованиях. Одноклеточные водоросли менее чувствительны к экстрактам золы, поскольку только ее неразбавленные растворы токсически влияли на них. Биотестирование на инфузориях также позволило оценить токсичность неразбавленных экстрактов обоих видов золы. По результатам тестирования на этих 4 объектах ирша-бородинская зола оказала на них более негативное действие.

Прямые физиологические эксперименты на теплокровных лабораторных животных позволили выявить общетоксическое, гонадотоксическое и аллергологическое действие обоих видов золы на их организм.

В целом, оценивая результаты изучения влияния двух видов золы на содержание некоторых элементов в мелниорированных почвах и выращенных на них растениях, на

микробиологическую активность почвы, на структурно-групповой состав микроорганизмов, на организмы-гидробионты, а также организм теплокровных лабораторных животных, можно заключить, что ирша-бородинская и шатурская золы нельзя рекомендовать к применению в расчетных дозах (соответственно 60 и 20 т/га), особенно при выращивании зерновых и овощных культур. Вероятно, ирша-бородинскую золу можно использовать лишь в относительно невысоких дозах (например, для поддерживающего известкования слабокислых или близких к нейтральным почвам), а шатурскую золу — при рекультивационных мероприятиях, не предусматривающих дальнейшее возделывание овощных, кормовых и зерновых культур.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахутин В.М., Пожаров Л.В., Попечителей Е.П. Биотестовое измерение параметров среды как основа оценки антропоэкологической ситуации. — В кн.: Антропоэкологическая оценка и формирование оптим. гор. среды. Л., 1988, с. 59—61. — 2. Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв. М.: Изд-во МГУ, 1989. — 3. Барков А.В., Этлин С.Н., Лахонина Г.М. Дифференциальная токсичность водных сред. — В сб.: Актуальные проблемы гигиены, регламентир. хим. факторов в объектах окружающей среды. / Тез. докл. Всесоюз. конф. 24—25 окт. 1989 г. Пермь, 1989, с. 21—22. — 4. Добровольский Г.В., Розанов Б.Г., Гришина Л.А., Орлов Д.С. Проблемы мониторинга и охраны почв. — В сб.: Докл. симп. VII съезда Всесоюз. общества почвоведов, 9—13 сент. 1985 г. Ташкент, 1985, с. 255—265. — 5. Дюндик О.Б., Осипова Е.В., Гиль Т.А. и др. Сравнительная оценка токсичности водных вытяжек золы бурых углей. — Биол. науки, 1983, № 1, с. 63—67. — 6. Дюндик О.Б., Осипова Е.В., Казаринова Т.Ф., Днепровская Н.М. О токсичности водных вытяжек бурого угольной золы в связи с ее использованием в сельском хозяйстве. — Биол. внутр. вод (информ. бюл.), 1987, № 75, с. 62—64. — 7. Кузьмич М.А., Пушкарева М.М., Величко В.А. и др. Кальцийсодержащие отходы промышленности. Краткая характеристика, годовой выход и запасы. М., 1987. — 8. Кузьмич М.А., Оконский А.П., Кочнев Н.К., Сутурин А.Н. Перспективы использования золы бурых углей. Сообщ. 1. Влияние золы угольных ТЭЦ на окружающую среду. — Химия в сельск. хоз-ве, 1990, № 9, с. 28—33. — 9. Кузьмич М.А., Оконский А.П., Кочнев Н.К., Сутурин А.Н. Перспективы использования золы бурых углей. Сообщ. 2. Агрохимическая и токсикологическая оценка бурого угольной золы. — Химия в сельск. хоз-ве, 1990, № 12, с. 43—47. — 10. Кочнев Н.К., Антоненко А.М., Куликова Н.Н. Действие высококальциевой золы ирша-бородинских углей на кислотность серой лесной глееватой почвы. — Тез. докл. совещ. «Комплексное использование углей СССР в народном хозяйстве, 11—13 июля 1989 г.» Иркутск, 1989, с. 56—58. — 11. Кочнев Н.К., Гавва Л.И., Антоненко А.М. и др. Низкокальциевая зола азейских уг-

лей — мелнирант серой лесной глесватой почвы. — Тез. докл. совещ. «Комплексное использование зол углей СССР в народном хозяйстве», 11—13 июля 1989 г. Иркутск, 1989, с. 49—51. — 12. *Кураков А.В., Гузев В.С., Степанов А.Л. и др.* Минеральные удобрения как фактор воздействия на почвенную микрофлору. — В кн.: Микроорганизмы и охрана почв / Под ред. Д.Г. Звягинцева. М.: Изд-во МГУ, 1989, с. 47—85. — 13. *Левин С.В., Гузев В.С., Асеева И.В. и др.* Тяжелые металлы как фактор антропогенного воздействия на почвенную микробиоту. — В кн.: Микроорганизмы и охрана почв / Под ред. Д.Г. Звягинцева. М.: Изд-во МГУ, 1989, с. 5—46. — 14. Методические рекомендации по гигиеническому обоснованию ПДК химических веществ в почве. М.: МЗ СССР, 1982. — 15. Методические указания по разработке и научному обоснованию предельно допустимых концентраций вредных веществ в воде водоемов. — М.: МЗ СССР, 1976. — 16. Методические рекомендации по установлению предельно допустимых концентраций загрязняющих веществ для воды рыбохозяйственных водоемов. М.: ВНИРО, 1986. — 17. Методы биотестирования вод. Черногловка: ОИХФ АН СССР, 1988. — 18. *Оконский А.И., Прядко А.Л.,*

Величко В.А., Черников В.А. Эколого-гигиеническая оценка промышленных отходов — химических мелнирантов почв. — Изв. ТСХА, 1996, вып. 4, с. 98—106. — 19. *Прядко А.Л.* Эколого-гигиеническая оценка золошлаков ТЭЦ в сельском хозяйстве. — Канд. дис. М., 1993. — 20. *Строганов Н.С.* Методики биологических исследований по водной токсикологии. М.: Наука, 1971. — 21. *Сэги И.* Методы почвенной микробиологии. М.: Колос, 1983. — 22. *Этлин С.Н., Лахонина Г.М., Прлина П.С.* Ускоренная оценка токсичности химических веществ с помощью тест-объекта инфузорий *Tetrahymena pyriformis*. — В кн.: Актуал. пробл. мед. токсикол. в ЭССР / Матер. научно-практ. конфер. 22—23 апр. 1986 г. Таллин, 1989, с. 16—18. — 23. *Этлин С.Н., Лахонина Г.М., Мадоян А.Г.* Вопросы теории и практики применения простейших организмов в эколого-токсикологических исследованиях. — В кн.: Эколог. морских и пресноводных простейших. — Тез. докл. II Всесоюз. симп. протозоологов, 12—15 сент. 1989 г. Ярославль, 1989, с. 79. — 24. *Giesy John P., Hoke Robert A.* — *J. Great Lakes Res.*, 1989, vol. 15, N 4, p. 539—569. — 25. *Khangarot B.S., Ray P.K.* — *Arch. Hydrobiol.*, 1988, vol. 113, N 4, p. 447—455.

Статья поступила 13 февраля 1997 г.